

Iiro Rautsola

BTEX -yhdisteiden määrittäminen tehtaasta jätevedestä HS-GC-FID -menetelmällä – menetelmän kehitys ja validointi

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Laboratorioanalyttikko (AMK)

Laboratorioala

Opinnäytetyö

15.3.2016

Tekijä(t) Otsikko Sivumäärä Aika	Iiro Rautsola BTEX-yhdisteiden analysointi tehtaan jätevedestä HS-GC-FID-menetelmällä – menetelmän kehitys ja validointi 45 sivua + 11 liitettä 15.3.2016
Tutkinto	Laboratorioanalyttikko (AMK)
Koulutusohjelma	Laboratorioala
Ohjaaja(t)	Tutkija Leea Kuusimäki, Tikkurila Oyj Yliopettaja Jukka Niiranen, Metropolia Ammattikorkeakoulu
<p>Opinnäytetyö suoritettiin Tikkurila Oyj:n analyttisessä laboratoriossa. Tavoitteena oli kehittää ja validoida HS-GC-FID-tekniikkaan perustuva analyysimenetelmä BTEX-yhdisteiden analysoimiseksi tehtaan jätevedestä pitoisuusalueella 0,4–100 ppm.</p> <p>Menetelmä kehitettiin Agilent 7694 -headspace-laitteen ja Agilent 7890A -kaasukromatografian yhdistelmälle. Pääasiallinen näytematriisi oli maallitehtaalta toimitettu pesuvesi. Menetelmän kehityksen tavoitteena oli kehittää herkkä, tarkka, ja toistettava menetelmä tutkimalla tasapainotuslämpötilan, suolanlisäyksen, näytemäärän, paineistusajan, ja näytepullon ravistimen vaikutusta analyttipiikkien vasteisiin. Menetelmän kehitys sisälsi lisäksi kahden eri sisäisen standardin vertailun. Menetelmän toimivuus testattiin validoinnilla, joka sisälsi lineaarisuuden ja mittausalueen, tarkkuuden, ja toistettavuuden validoinnin.</p> <p>Kehitetyn menetelmän toteamisrajaksi BTEX-yhdisteiden summalle määritettiin 0,775 ppm ja määritysrajaksi 1,5 ppm. Menetelmän lineaarisuus todettiin määritysrajasta 50 ppm:aan asti. Menetelmän tarkkuus mittausalueella on $< \pm 40$ %:n poikkeama laskennallisesta pitoisuudesta. Saantokokeiden tulokset sijoituivat välille 60–160 %, keskiarvon ollessa 94 % ja keskihajonnan 18 %.</p> <p>Kehitetyn menetelmän todettiin soveltuvan tarkoitukseensa. Menetelmä soveltuu pohjaksi jatkokehitykselle, jonka tarkoituksena on saada loput näytteistä analysoitavat yhdisteet saman menetelmän piiriin.</p>	
Avainsanat	BTEX, bentseeni, tolueeni, etyylibentseeni, ksyleeni, jätevesi, headspace, GC-FID

Author(s) Title	Ilro Rautsola Measuring BTEX-compounds in industrial waste water – method development and validation
Number of Pages Date	45 pages + 11 appendices 15 March 2016
Degree	Bachelor of Laboratory Services
Degree Programme	Laboratory Services
Instructor(s)	Leea Kuusimäki, Research Scientist, Tikkurila Oyj Jukka Niiranen, Principal Lecturer, Metropolia University of Applied Sciences
<p>This thesis project was carried out in the analytical laboratory of Tikkurila Oyj. The objective was to develop and validate an analytical method for quantitative analysis of BTEX-compounds in industrial waste water by means of HS-GC-FID –technique.</p> <p>The method was developed for the combination of an Agilent 7694 headspace sampler and an Agilent 7890A gas chromatograph. The principal sample matrix was industrial wash water from a paint factory. The goal of method development was to develop a sensitive, accurate and repeatable method by investigating the effects of equilibration time, addition of salts, sample amount, pressurization time, and vial agitation on analyte response. In addition, comparison of two different internal standards was included in method development. The feasibility of the method was tested by validation of linearity, measurement range, accuracy, and repeatability.</p> <p>Limits of detection and quantification were defined at 0,775 ppm and 1,5 ppm, respectively. Linearity of the method was defined from limit of quantification to 50 ppm. Accuracy of the method in measurement range was assessed to be < ±40 % deviation from calculated concentrations. The range of yield was 60–160 %, and an average yield was measured at 94 % with a standard deviation of 18 %.</p> <p>The method was assessed to be applicable to its purpose. The method is suitable as a basis for further method development if the analysis of the rest of the compounds of interest present in the sample matrix are to be integrated into the same method.</p>	
Keywords	BTEX, benzene, toluene, ethylbenzene, xylene, waste water, headspace, GC-FID

Sisällys

Lyhenteet

1	Johdanto	1
2	BTEX-yhdisteet	1
2.1	Kemialliset ominaisuudet	1
2.2	Fysiologiset vaikutukset	3
2.2.1	Bentseeni	3
2.2.2	Tolueeni	4
2.2.3	Etyylibentseeni	4
2.2.4	Ksyleeni	5
2.3	Altistuminen ja lainsäädäntö	5
2.4	Ympäristövaikutukset	6
3	Teoria	6
3.1	Headspace	6
3.1.1	TVT ja FET	8
3.1.2	MHE	9
3.2	Kaasukromatografia	10
3.3	FID	10
3.4	Massaspektrometria	11
4	Laitteisto ja materiaalit	11
4.1	Näytematriisi	11
4.1.1	Sideaineet	12
4.1.2	Liuottimet	12
4.1.3	Pigmentit, täyteaineet ja lisäaineet	13
4.2	Headspace-laitteen toiminta	13
4.2.1	Staatinen ja dynaaminen headspace	14
4.2.2	Injektiomenetelmät	14
4.3	Laitteiston kuvaus ja headspace-laitteen parametrit	17
5	Menetelmän kehitys ja validointi	20
5.1	Menetelmän kuvaus	20
5.2	Menetelmän kehityksen parametrit	20
5.2.1	Tasapainotuslämpötila	20

5.2.2	Suolanlisäys	21
5.2.3	Paineistusaika	21
5.2.4	Ravistin	21
5.2.5	Näytemäärä	21
5.2.6	Sisäinen standardi	21
5.3	Validointi ja validoinnin parametrit	22
5.3.1	Lineaarisuus ja mittausalue	22
5.3.2	Tarkkuus	22
5.3.3	Toistettavuus	22
5.4	Näytteiden esikäsittely	23
5.5	Kalibrointiliuokset	23
5.6	GC-parametrit	23
5.7	Käytetyt reagenssit ja välineet	24
6	Tulokset	25
6.1	Menetelmän kehitys	25
6.1.1	Lämpötila	25
6.1.2	Suola	27
6.1.3	Paineistusaika	28
6.1.4	Ravistin	29
6.1.5	Näytteen määrä	30
6.1.6	Sisäinen standardi	31
6.2	Validointi	33
6.2.1	Lineaarisuus ja mittausalue	33
6.2.2	Tarkkuus	35
6.2.3	Toistettavuus	38
7	Yhteenveto	40
	Lähteet	42
	Liitteet	
	Liite 1. Tasapainotuslämpötilatestit	
	Liite 2. Suolanlisäystestit	
	Liite 3. Paineistusaikatestit	
	Liite 4. Ravistintestit	
	Liite 5. Näytemäärätestit	
	Liite 6. Sisäinen standardi	
	Liite 7. Standardisuorat ja esimerkki kalibrointikuvaajasta	
	Liite 8. Residuaalikuvaajat	

- Liite 9. Saantokokeiden tulokset
- Liite 10. Esimerkkikromatogrammi
- Liite 11. Vertailu liuosinjektiomenetelmään

Lyhenteet

HS	<i>Headspace</i> . Kromatografisen erottelu- ja analyysimenetelmän yhteydessä käytettävä näytteensyöttötekniikka.
GC	<i>Gas chromatography</i> , kaasukromatografia. Yhdisteiden kiehumispisteisiin sekä analyyttien ja stationäärfaasin vuorovaikutuksiin perustuva kromatografinen erottelutekniikka.
FID	<i>Flame ionization detector</i> , liekki-ionisaatiodetektor. Kuuman liekin aiheuttamaan ionisaation perustuva detektoritekniikka.
BTEX	<i>Benzene, toluene ethylbenzene xylene</i> ; bentseeni, tolueeni, etyylibentseeni ja ksyleeni.
ATSDR	<i>Agency for Toxic Substances and Disease Registry</i> , Yhdysvaltain sosiaali- ja terveysministeriön alainen virasto.
MRL	<i>Minimal risk level</i> , minimaalisen riskin taso. Haitalliselle aineelle altistumisen taso, jolla yhdisteen ei-karsinogeenisten haittavaikutusten on arvioitu olevan merkittävän alhaisia.
VOC	<i>Volatile organic compounds</i> , haihtuvat orgaaniset yhdisteet. Yleisnimitys orgaanisille yhdisteille, joiden kiehumispiste on ≤ 250 °C.
TVT	<i>Total evaporation technique</i> . Koko näytetilavuuden täydelliseen höyrystämiseen perustuva HS –erikoistekniikka.
FET	<i>Full evaporation technique</i> . Analyytin täydelliseen höyrystämiseen perustuva HS –erikoistekniikka.
MHE	<i>Multiple headspace extraction</i> . Useaan injektioon perustuva HS –erikoistekniikka.
P&T	<i>Purge & Trap</i> . Menetelmä, jossa analyyttien fokusoimiseksi käytetään adsorptioloukkua.

IAA	<i>Isoamyl alcohol</i> , isoamyylialkoholi.
LoD	<i>Limit of detection</i> , tunnistusraja. Alin kvalitatiivisesti analysoitava pitoisuus.
LoQ	<i>Limit of quantification</i> , määrittäysraja. Alin kvantitatiivisesti analysoitava pitoisuus.
SPME	<i>Solid-phase microextraction</i> , kiinteäfaasimikrouutto

1 Johdanto

Tämä opinnäytetyö toteutettiin Tikkurila Oyj:n analyttiselle laboratoriolle. Työn tarkoituksena oli kehittää ja validoida HS-GC-FID-tekniikkaan perustuva menetelmä bentseenin, tolueenin, etyylibentseenin ja kolmen ksyleenin rakenneisomeerin analysoimiseksi tehtaan jätevesistä. Tarkoituksena oli kehittää menetelmä, joka olisi käytössä olevaa liuosinjektio-GC-FID-menetelmää herkempi, mutta jonka näytteenkäsittelyaika pysyisi mahdollisimman lyhyenä. Menetelmän pohjana oli vanhempi, HS-GC-MS-tekniikkaan perustuva menetelmä sekä käytössä oleva liuosinjektiomenetelmä.

Teoriaosuudessa on perehdytty erityisesti headspace-tekniikan teoreettiseen taustaan sekä laitteen toimintaperiaatteeseen. Menetelmän kehityksen tueksi on pyritty tuomaan esille joitakin vaihtoehtoisia tekniikoita, joita ei tämän työn osalta kokeiltu käytännössä, mutta joita voi soveltaa samantyyppisille näytematriiseille ja analyyteille.

Menetelmän kehitys kattoi näytteen esikäsittelyn ja HS-laitteen ajoparametrit, ja validoinnissa pyrittiin osoittamaan kehitetyn menetelmän toimivuus. Menetelmää kehittäessä pyrittiin menetelmälle saamaan maksimaalinen tarkkuus ja toistettavuus, sekä pitämään yksittäistä näytettä kohden käytettävä esikäsittelyaika mahdollisimman lyhyenä. Menetelmän parametrien vaikutusta testattaessa tehtiin työn teoreettista taustaa vasten oletus parametrin muutosten vaikutuksesta vasteisiin, ja tulokset arvioitiin heti testien jälkeen. Menetelmän kehityksen jatkotoimenpiteistä päätettiin tulosten perusteella, ja soveltuvien ajoparametrien määrittämisen jälkeen menetelmän toistettavuuteen, tarkkuuteen, sekä lineaarisuuteen ja mittausalueeseen liittyvät parametrit validoitiin.

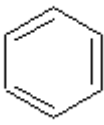
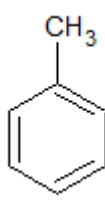
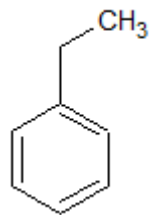
2 BTEX-yhdisteet

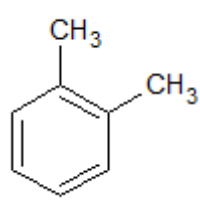
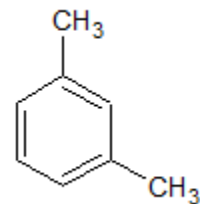
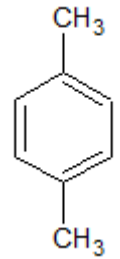
2.1 Kemialliset ominaisuudet

Bentseenistä, tolueenista, etyylibentseenistä sekä kolmesta ksyleenin rakenneisomeerista käytetään usein lyhennettä BTEX-yhdisteet. Ne ovat monosyklisiä aromaattisia yhdisteitä, joita esiintyy mm. maaöljyssä ja kivihiilitervassa. BTEX-

yhdisteiden höyrynpaine huoneenlämmössä on korkea ja niiden kiehumispiste on alhainen, joten ne haihtuvat herkästi. Tästä syystä ne luokitellaan VOC-yhdisteiksi. Ne ovat värittömiä, huoneenlämmössä nestemäisiä yhdisteitä, joiden liukoisuus veteen on alhainen. Yhdisteiden fysikaalis-kemiallisia ominaisuuksia on esitetty taulukossa 1. [1;2.]

Taulukko 1. BTEX-yhdisteiden ominaisuuksia [3;4;5;6;7;8.]

	Bentseeni	Tolueeni	Etylibentseeni
			
IUPAC-nimi	bentseeni	metyylibentseeni	etylibentseeni
CAS-numero	71-43-2	10-88-3	100-41-4
Molekyyli massa	78,1	92,1	106,2
Sulamislämpötila (°C)	6	-95	-95
Kiehumislämpötila (°C)	80	111	136
Liukoisuus veteen, (g/100 ml 20 °C:ssa)	0,18	n/a	0,015
Höyrynpaine (kPa 20 °C:ssa)	10	3,8 (25 °C:ssa)	0,9
Oktanoli/vesi-jakaantumiskerroin (log P _{ow})	2,13	2,69	3,1

	o-ksyleeni	m-ksyleeni	p-ksyleeni
			
IUPAC-nimi	1,2-dimetyylibentseeni	1,3-dimetyylibentseeni	1,4-dimetyylibentseeni
CAS-numero	95-47-6	108-38-3	106-42-3
Molekyyli massa	106,2	106,2	106,2
Sulamislämpötila (°C)	-25	-48	13
Kiehumislämpötila (°C)	144	139	138
Liukoisuus veteen (g/100 ml 20 °C:ssa)	n/a	n/a	n/a
Höyrynpaine (kPa 20 °C:ssa)	0,7	0,8	0,9
Oktanoli/vesi-jakaantumiskerroin (log P _{ow})	3,12	3,2	3,15

2.2 Fysiologiset vaikutukset

BTEX-yhdisteiden haittavaikutukset ihmiselle vaihtelevat yhdistekohtaisesti. Yleisiä akuutteja haittavaikutuksia ovat ihon ja hengitysteiden ärsytysoireet sekä keskushermostolliset oireet, kuten huimaus ja päänsärky. Pitkittynyt altistus voi aiheuttaa neurologisia vaurioita. BTEX-yhdisteet voivat imeytyä kehoon hengitysteitse, ruoansulatuskanavan kautta, sekä suoraan ihon läpi. Koska yhdisteet ovat herkästi höyrystyviä, yleisin altistumisreitti on hengitystiet. Riippumatta altistusreitistä yhdisteet imeytyvät ja leviävät kehoon nopeasti ja tehokkaasti. ATSDR:n määrittämät MRL-arvot tai, MRL-arvon puuttuessa, viitearvot BTEX-altistukselle on esitetty taulukossa 2. [9;10.]

Taulukko 2. BTEX-yhdisteiden altistumisen MRL/viitearvot [9;10.]

Yhdiste	Altistuksen kesto		
	Akuutti	Subakuutti	Krooninen
Bentseeni	0,05 ppm (ohjearvo)	0,004 ppm (MRL)	0,0004 ppm (ohjearvo)
Tolueeni	1 ppm (MRL)	0,08 ppm (ohjearvo)	0,08 ppm (MRL)
Etyylibentseeni	1 ppm (ohjearvo)	1 ppm (ohjearvo)	0,1 ppm (ohjearvo)
Ksyleeni	1 ppm (MLR)	0,7 ppm (MRL)	0,1 ppm (MRL)

2.2.1 Bentseeni

Akuutti altistuminen bentseenihöyryille aiheuttaa hengitysteiden ärsytystä. Korkeille pitoisuuksille altistuminen voi aiheuttaa verenvuotoa hengitysteiden kudoksissa, sekä kemiallisia palovammoja. Akuutteja keskushermostollisia vaikutuksia ovat huimaus, päänsärky, sekavuus sekä tajuttomuus. [11.]

Pitkittynyt tai toistuva altistuminen voi aiheuttaa keuhkopöhöä sekä verenvuotoa keuhkoissa. Pitkittynyt altistuminen voi myös vahingoittaa luuydintä, mikä puolestaan voi johtaa pancytopeniaan, tai, vakavampana seurauksena, aplastiseen anemiaan. Bentseenialtistuksesta johtuvan luuytimen vaurioitumisen on havaittu aiheuttavan immunoglobuliinien ja valkosolujen määrän alenemista, ja sitä kautta immuunijärjestelmän vahingoittumista. Kroonisen altistumisen epäillään aiheuttavan neurologisia poikkeamia, kuten neuropatiaa ja alaraajojen atrofiaa. Bentseenin karsinogeenisiä ja genotoksisia vaikutuksia on tutkittu laajalti, ja sen on havaittu aiheuttavan syöpää sekä kromosomaalisia poikkeamia ja DNA-synteesin inhibitiota. [11.]

Hyvin korkeille bentseenipitoisuuksille altistuminen voi pahimmillaan johtaa kuolemaan. Kuoleman aiheuttaa tukehtuminen, hengityksen lamaantuminen, keskushermoston toiminnan aleneminen tai sydämen toimintahäiriö. [11.]

2.2.2 Tolueeni

Tolueenihöyryt ärsyttävät hengitysteitä ja silmiä, ja akuutteja keskushermostollisia oireita ovat väsymys, päänsärky sekä koordinaatiokyvyn aleneminen. Suuremmilla annoksilla vaikutukset voivat olla narkoottisia, ja krooninen tolueenille altistuminen on usein seurausta tolueenipitoisten höyryjen hengittämisestä päihtymistarkoituksessa. [12.]

Pitkittynyt tai toistuva altistuminen tolueenille voi aiheuttaa keskushermoston vaurioitumista, josta puolestaan voi seurata värinäön ja kuuloaistin heikkenemistä sekä pysyvää keskittymis- ja koordinaatiokyvyn alenemista. Tolueenin on epäilty lisäävän syöpäriskiä, ja altistuminen korkeille tolueenipitoisuuksille raskauden aikana voi aiheuttaa sikiön epämuodostumia. [12.]

Akuutti korkealle tolueenipitoisuudelle altistuminen voi aiheuttaa sydämen rytmihäiriöitä, jotka puolestaan voivat johtaa kuolemaan. Myös tolueenin keskushermostoa lamauttava vaikutus voi olla kuolemaan johtava. [12.]

2.2.3 Etyylibentseeni

Etyylibentseenihöyryille altistuminen ärsyttää hengitysteitä ja silmiä. Korkeammille pitoisuuksille altistuminen voi aiheuttaa keskushermostollisia oireita, kuten huimausta ja sekavuutta. [13.]

Eläinkokeissa on havaittu pitkittyneen etyylibentseenialtistumisen vaikuttavan maksaan. Yleisimmin havaittuja vaikutuksia ovat maksan painon, maksan kudosten sekä maksasolujen sisäisen rakenteen muutokset ovat. Eläinkokeissa etyylibentseenin on myös havaittu vahingoittavan munuaisia, ja sen epäillään olevan karsinogeeni. Etyylibentseenin epäillään vaikuttavan ihmiseen samankaltaisesti, vaikka käyttökelpoista tutkimusaineistoa on toistaiseksi vähän. Pitkittynyt etyylibentseenialtistus saattaa aiheuttaa pysyvää vahinkoa sisäkorvassa, ja siten aiheuttaa kuulonalenemaa. [13.]

2.2.4 Ksyleeni

Akuutti altistuminen ksyleenille aiheuttaa lieviä keskushermostollisia vaikutuksia, kuten päänsärkyä, väsymystä sekä päihtymisen tunnetta. Korkeammille pitoisuuksille altistuttaessa voi vaikutuksiin kuulua lähimuistin heikkenemistä sekä tasapainoastin häiriintymistä. Ksyleenihöyryt ärsyttävät hengitysteitä, ja korkeammat pitoisuudet voivat aiheuttaa hengitysvaikeuksia sekä äärimmäisissä tapauksissa keuhkopöhöä ja -verenvuotoa. Pahoinvointia ja oksentelua esiintyy ajoittain akuutteina oireina. [14]

Pitkittynyt tai toistuva altistuminen voi aiheuttaa lihasvoiman heikkenemistä, jonka puolestaan epäillään johtuvan ksyleenin neurologisista vaikutuksista. Eläinkokeissa on havaittu pitkittyneen altistuksen aiheuttavan motorisen suorituskyvyn sekä oppimiskyvyn heikentymistä. [14.]

2.3 Altistuminen ja lainsäädäntö

BTEX-yhdisteitä käytetään kemian- ja kosmetiikkateollisuudessa liuottimina, ja niitä käytetään paljon polymeerien lähtöaineina. Yhdisteitä esiintyy merkittävässä määrin tupakansavussa ja polttoaineissa, ja niitä myös syntyy orgaanisen aineksen epätäydellisessä palamisessa. Yleisimmät altistumisen lähteet ovat liikenteen ja teollisuuden päästöt, joten yleisimmin altistuminen tapahtuu hengitysteitse. BTEX-yhdisteistä saastunut pohjavesi voi aiheuttaa altistusta ruoansulatuskanavan kautta tai ihon läpi. [2;9.]

BTEX-yhdisteet luetaan VOC-yhdisteisiin, joten niiden käyttöä on säädelty VOC-direktiiveillä ja -asetuksilla. Suomessa VOC-yhdisteiden käyttöä teollisuuslaitoksissa säätelee asetus 435/2001 (ajantasainen asetus 814/2010), ns. teollisuus-VOC -asetus, ja tuotteissa asetus 837/2005 (ajantasainen asetus 269/2012), ns. tuote-VOC -asetus. Teollisuus-VOC -asetuksen lisäksi teollisuuslaitosten orgaanisten liuottimien kulutusta säädellään ympäristönsuojeluasetuksella. Näissä asetuksissa on määritelty teollisuuslaitoksen orgaanisten liuottimien kulutukselle raja-arvot, joiden ylittyessä on joko tehtävä ilmoitus ympäristönsuojelun tietokantaan tai haettava ympäristölupa, riippuen siitä, mikä raja-arvo ylittyy, ja siitä, käsitelläänkö laitoksessa metalli- vai puupintoja. Tuote-VOC -asetus rajoittaa orgaanisten liuottimien käyttöä ns. rakennusmaaleissa, joita käytetään rakennusten kiinteiden osien maalaamiseen ja joilla pääsääntöisesti maalataan kohteessa. Asetuksessa rakennusmaalit on jaettu

käyttökohteiden mukaan 12 ryhmään, joiden sisällä on määritelty totaali-VOC -raja-arvot erikseen sekä liuotin- että vesiohenteisille tuotteille. [15;16.]

Teollisuusjätteen ja -jäteveden BTEX-pitoisuuksille on omat raja-arvonsa. Viemäriverkkoon johdettava teollisuusjätevesi saa sisältää BTEX-yhdisteitä enintään 3 mg/l, ja kaatopaikkajätteen raja-arvo on 6 mg/kg. [17;18;19.]

2.4 Ympäristövaikutukset

Korkean höyrynpaineensa johdosta BTEX-yhdisteet esiintyvät ympäristössä pääasiassa kaasuina. Maaperään tai veteen joutuessaan pienet määrät haihtuvat nopeasti, ja ilmassa ne hajoavat fotolyysin vaikutuksesta 2–3 päivässä. Maaperän ja vesien pieneliöt kykenevät hajottamaan yhdisteet sekä aerobisesti että anaerobisesti. Suurien määrien päätyemisestä ympäristöön voi seurata yhdisteiden kulkeutumista pohjavesiin. Yhdisteet eivät ole merkittävässä määrin bioakkumuloituvia, sillä eliöiden aineenvaihdunta hajottaa yhdisteet ennen niiden kertymistä rasvakudokseen. Matalat pitoisuudet eivät ole ympäristölle merkittävän haitallisia, mutta suuret pitoisuudet ovat myrkyllisiä vesieliöille. Kuten muut VOC-yhdisteet, BTEX-yhdisteet saattavat liittyä maanpinnan tason otsonin muodostukseen, joka voi vahingoittaa viljelyksiä ja materiaaleja. [1;2;11;20.]

3 Teoria

3.1 Headspace

Headspace on näytteensyöttötekniikka, joka perustuu analyyttien jakautumiseen näytelefaasin ja kaasufaasin välillä. Periaatteena on saada HS-näytepulloon valmistellun näytteen sisältämät analyytit erottumaan näytematriisista siirtämällä analyyttien konsentraation tasapainoa kaasufaasin puolelle, josta näyte injektoidaan HS-laitteen kautta analyysilaitteeseen. Näyte voi olla nestemäinen tai kiinteä. Käytettäessä headspace-tekniikkaa on analyytin aikaansaama vaste riippuvainen analyytin konsentraatiosta kaasufaasissa, joka puolestaan on riippuvainen näytteen alkuperäisen konsentraation suhteesta jakaantumiskertoimeen K ja faasisuhteeseen β . Analyytin aikaansaamaa vastetta voidaan kuvata kaavalla

$$A \propto C_G = \frac{C_0}{K + \beta}, \text{ jossa} \quad (1)$$

A = analyyttipiikin pinta-ala

C_G = analyytin konsentraatio kaasufaasissa

C_0 = analyytin alkuperäinen konsentraatio näytteessä

K = jakautumiskerroin ja

β = faasisuhde. [15.]

Jakautumiskerroin K kuvaa analyytin konsentraatioiden suhteita eri faasien välillä. Se voidaan ilmaista kaavalla

$$K = \frac{C_S}{C_G}, \text{ jossa} \quad (2)$$

C_S = analyytin konsentraatio näytefaasissa ja

C_G = analyytin konsentraatio kaasufaasissa. [21;22.]

K on riippuvainen analyytin höyrynpaineesta sekä aktiivisuuskertoimesta seuraavasti:

$$K \propto \frac{1}{p_i^0 \cdot \gamma_i}, \text{ jossa} \quad (3)$$

p_i^0 = analyytin höyrynpaine ja

γ_i = analyytin aktiivisuuskerroin. [21.]

Koska analyytin höyrynpaine on riippuvainen lämpötilasta, K :n arvo muuttuu lämpötilan funktiona. Aktiivisuuskerroin γ kuvaa analyyttimolekyylien vuorovaikutuksia näytematriisin kanssa: suurempi kerroin tarkoittaa vahvempia vuorovaikutuksia. Poolisten yhdisteiden, joiden K on vesi-ilma -systeemeissä lähtökohtaisesti suuri, erottumiseen näytematriisista voidaan vaikuttaa lisäämällä näytematriisiin elektrolyyttiä, jolloin yhdisteiden tasapaino siirtyy kaasufaasin puolelle. Poolittomien yhdisteiden K on pääsääntöisesti pieni, joten aktiivisuuskertoimen muutoksilla ei ole niiden erottumiseen yhtä merkittävää vaikutusta. Lämpötilan vaikutukset analyyttien höyrynpaineeseen ovat merkittäviä sekä poolittomien että poolisten yhdisteiden tasapainoon. Poolisten yhdisteiden konsentraatio kaasufaasissa on enemmän riippuvainen K :sta kuin β :sta, joten lämpötilalla ja aktiivisuuskertoimella on merkittävä rooli poolisten yhdisteiden analysoinnissa headspace-tekniikalla. [21;22.]

Faasisuhde β kuvaa näytetilavuuden ja kaasufaasin suhdetta. Se voidaan ilmaista kaavalla

$$\beta = \frac{V_G}{V_S} = \frac{V_V - V_S}{V_S} = \frac{V_G}{V_V - V_G}, \text{ jossa} \quad (4)$$

V_G = kaasufaasin tilavuus

V_S = näytefaasin tilavuus ja

V_V = näytepullon kokonaistilavuus. [21.]

Poolittomien yhdisteiden, joiden jakautumiskerroin K on pieni, konsentraatio kaasufaasissa riippuu voimakkaasti β :sta [21.]. Näytemäärää lisäämällä analyytin totaaliainemäärä systeemissä kasvaa, ja konsentraatio kaasufaasissa kasvaa kaasufaasin tilavuuden pienentyessä. Poolisten yhdisteiden konsentraatio kaasufaasissa ei ole yhtä merkittävästi riippuvainen β :sta.

Headspace on soveltuva näytteensyöttötekniikka näytteille, joiden matriisi on kompleksinen ja sisältää paljon kiinteitä tai heikosti höyrystyviä epäpuhtauksia.

Analyytit, jotka liukenevat heikosti näytematriisiin tai omaavat matriisin pääkomponentteja alhaisemman kiehumispisteen, ovat matalissakin pitoisuuksissa erotettavissa headspace –tekniikalla. Headspace –tekniikkaa käytetään yleisimmin kaasukromatografisen menetelmän näytteensyöttötekniikkana.

3.1.1 TVT ja FET

Headspace-tekniikkaa käytettäessä voidaan matriisivaikutus eliminoida käyttämällä metodeja, joissa pyritään analyytin koko ainemäärän höyrystämiseen. Nämä menetelmät voidaan jakaa kahteen ryhmään: TVT (Total Vaporization Technique) ja FET (Full Evaporation Technique).

TVT-metodeissa on tarkoitus höyrystää koko näytetilavuus, jolloin HS-näytepullossa ei ole enää erillisiä kaasu- ja nestefaaseja, vaan läsnä on vain yksi, kaasumainen faasi. TVT-metodeissa käytettävät näytetilavuudet ovat hyvin pieniä: käytettäessä tavanomaisia, 22,3 ml:n HS-näytepulloja on vesiliuosten näytetilavuuden oltava n. 13–15 μ l, ettei kondensoitunutta faasia muodostu tasapainotuksen aikana. Koska

näytepullossa on vain yksi faasi, K ja β eivät vaikuta analyytin konsentraatioon kaasufaasissa. Tällöin analyytin konsentraatio näytepullossa voidaan laskea kaavalla

$$C_G = \frac{W_0}{V_V}, \text{ jossa} \quad (5)$$

C_G = analyytin konsentraatio kaasufaasissa

W_0 = analyytin ainemäärä näytteessä ja

V_V = näytepullon tilavuus. [21.]

FET-metodeissa pyritään höyrystämään näytteen sisältämä analyyttimäärä kokonaan siten, että osa näytematriisista on kondensoituneessa muodossa. Tällöin näytepullossa on kaksi faasia, kuten tavanomaisessa headspace-metodissa, mutta analyytin tasapaino on täysin kaasufaasin puolella, jolloin analyytin K on teoriassa 0. Käytännössä tämä toteutetaan säätämällä β mahdollisimman suureksi, so. pienentämällä näytilavuus mahdollisimman pieneksi. Tällöin analyytin konsentraatio kaasufaasissa on

$$C_G = \frac{W_0}{V_V - V_S}, \text{ jossa} \quad (6)$$

C_G = analyytin konsentraatio kaasufaasissa

W_0 = analyytin ainemäärä näytteessä

V_V = näytepullon tilavuus ja

V_S = jäljellä olevan kondensoituneen faasin tilavuus. [21.]

TVT- ja FET-metodeita voidaan käyttää, kun analyytin K on hyvin korkea, tai kun matriisivaikutus on eliminoitu kokonaan. Tavanomaiset headspace –menetelmät ovat kuitenkin pääsääntöisesti herkempiä. [21.]

3.1.2 MHE

MHE (Multiple Headspace Extraction) on tekniikka, jossa pyritään koko analyyttimäärän erottamiseen ja injektointiin. MHE-tekniikkaa näytepulloa ei näytteen injektointin jälkeen poisteta laitteesta, vaan näytepullon annetaan tasapainottua uudestaan, jonka jälkeen näytekasua injektoidaan toistamiseen. Injektointeja jatketaan, kunnes haluttu määrä injektointeja on suoritettu ja analyytin voidaan olettaa erottuneen matriisista kokonaisuudessaan. Standardit käsitellään TVT-metodilla MHE-tekniikkaa käyttäen, ja

näytteiden piikkien pinta-alojen summaa verrataan standardien piikkien pinta-alojen summaan. MHE-tekniikkaa voidaan käyttää, jos näytematriisi on kiinteä tai standardeja ei voida valmistaa näytematriisia tarpeeksi hyvin vastaavaan matriisiin. [21;24.]

3.2 Kaasukromatografia

Kaasukromatografia on erotusmenetelmä, joka soveltuu yhdisteille, jotka höyrystyvät hajoamatta. Kaasukromatografiassa liikkuvana faasina toimii näytteen ja stationäärifaasin suhteen inertti kaasu, yleisimmin helium. Yleisimmin stationäärifaasina on neste. Kaasukromatografiassa erottuminen perustuu analysoitavien yhdisteiden erilaisiin liukoisuuksiin stationäärifaasiin ja eroaviin höyrinpaineisiin. Yhdisteiden eluoituminen tapahtuu usein kiehumispistejärjestyksessä, mutta eluotumisjärjestykseen vaikuttavat myös stationäärifaasin ominaisuudet, kuten poolisuus. [25, s. 183–184.]

Kaasukromatografiin injektoitu näyte päätyy kuumaan injektoriin. Injektorista näyte kulkeutuu kantajakaasun mukana kolonniin, joka sijaitsee kolonniuunissa. Kolonniuunin lämpötilaa hallitaan ajon aikana, ja yhdisteiden erottumista voidaan kontrolloida kolonniuunin lämpötilaohjelmalla. Kolonnin läpi kuljettuaan yhdisteet päätyvät detektorille, jossa yhdisteet havaitaan. [25, s. 183–184.]

Kaasukromatografia on yleisesti käytetty erotusmenetelmä VOC-yhdisteille. VOC-yhdisteet, BTEX mukaan lukien, ovat määritelmän mukaisesti herkästi höyrystyviä ja kestävät hyvin kaasukromatografian lämpötiloja.

3.3 FID

Liekki-ionisaatiodetektor (*flame ionization detector, FID*) on kaasukromatografiassa yleisesti käytetty detektor. Sen toiminta perustuu vetyliekkiin, jossa palaessaan analyytit muodostavat ioneja. Detektorissa on kaksi elektrodia, joiden välillä on korkea jännite, ja joiden välille analyytti-ionit indusoivat sähkövirran. Detektointi tapahtuu seuraamalla sähkövirran muutoksia ajan funktiona. FID:lla analysoitavien yhdisteiden on sellaisia, jotka muodostavat palaessaan ioneja. Tällaisia yhdisteitä ovat hiilivedyt, joiden palamistuotteina syntyy CHO^+ -ioneja. Vaste on verrannollinen paitsi analyytin konsentraatioon, myös analyyttimolekyylin hiilien lukumäärään. Happea, fosforia, rikkiä,

tyypeä tai halogeeneja sisältäviä yhdisteitä analysoitaessa FID:n herkkyys heikkenee, ja jalokaasuja, hiilidioksidia tai vettä sillä ei voida havaita. [25, s. 193;26.]

FID:n lineaarinen alue on laaja, ja se vaatii verrattain vähän huolto- ja ylläpitotoimenpiteitä. Se soveltuu toimintavarmuutensa vuoksi likaisien näytteiden, jotka saattavat herkempiä tekniikoita käytettäessä aiheuttaa komponenttien likaantumista ja herkkyyden alenemista, analysointiin.

3.4 Massaspektrometria

Massaspektrometria on yhdisteiden tunnistamisessa ja kvantitoinnissa yleisesti käytetty tekniikka, joka perustuu analyyttimolekyylin tuottamien fragmenttien massajakaumaan. Sen toimintaperiaatteena on ionisoida analyyttimolekyylit, jotka ionisoitumisen johdosta hajoavat pienemmiksi fragmenteiksi, jotka voivat olla joko ioneja tai neutraalisti varautuneita. Fragmentit erotellaan toisistaan massa-varaussuhteen perusteella ja ohjataan detektorina toimivalle elektronimonistimelle. [25, s. 122–128.]

Massaspektrometrit ovat hyvin herkkiä ja spesifejä, jolloin ne soveltuvat hyvin pienien pitoisuuksien analysoimiseksi kompleksisista matriiseista. Likaisien näytteiden, kuten jäteveden, analysointia rajoittaa epäpuhtauksien päätyminen laitteen sähkökomponentteihin ja siitä johtuva huoltotarve. Massaspektrometria on FID:ia herkempi tekniikka, ja tästä syystä sitä käytetään paljon jätevesianalyyseissä: se on erityisen soveltuva, jos analysoitavat pitoisuudet ovat matalia.

4 Laitteisto ja materiaalit

4.1 Näytematriisi

Menetelmällä analysoitavat näytteet ovat pääasiassa tehtaalta tulleita pesuvesiä, joihin on liuennut maalinvalmistuksessa käytettäviä yhdisteitä. Maalin pääkomponentit ovat sideaine, liuotin, pigmentit, täyteaineet sekä erilaiset lisäaineet. Näiden komponenttien läsnäolo näytteessä on otettava huomioon menetelmän kehityksessä.

4.1.1 Sideaineet

Maalin ominaisuuksiin vaikuttaa eniten sideaine, ja maalityypit nimetään usein sideaineen mukaan. Yleisimpiä maalityyppejä ovat akrylaatti-, alkydi-, polyuretaani- sekä epoksimaalit.

Akrylaattisideaineiset maalit ovat fysikaalisesti kuivuvia maaleja, joiden sideaineena toimivat akryylihapon tai sen johdannaisten esterit. Akrylaatit esiintyvät vaihtelevan mittaisina polymeereinä, joissa akrylaattimonomeerit ovat liittyneet toisiinsa α - ja β -hiilistä. [27;28.]

Alkydimaalit ovat ilman hapen vaikutuksesta kuivuvia maaleja, joiden sideaineena on alkydihartsia. Alkydihartsia valmistetaan kahdenarvoisen hapon, polyolin, sekä öljyn, jonka ketjussa on tyydyttymättömiä hiili-hiili -sidoksia, välisessä reaktiossa. [27;28;29.]

Polyuretaanimaalit ovat yksi- tai kaksikomponenttisia maaleja, joiden sideaineena toimii isosyanaattihartsia. Polyuretaanimaalit voivat kovettua ilman kosteuden tai erillisen kovettimen vaikutuksesta. [27;30.]

Epoksimaalit ovat kaksikomponenttisia maaleja, joissa toisena sideainekomponenttina toimii epoksihartsia. Epoksihartsin kovettuminen perustuu reaktiiviseen epoksidiryhmään, joka muodostaa sidoksia toisen sideainekomponentin kanssa. [27;28.]

Sideaineen osuus maalista on n. 15–30 % [28.]. Sideaineet ovat pääsääntöisesti hydrofobisia ja niissä on pitkiä alifaattisia hiilivetyketjuja, jolloin analyyttimolekyylien on mahdollista adsorboitua sideaineesta muodostuneen partikkelin pintaan. Sideaineen vuorovaikutukset analyyttien kanssa on huomioitava menetelmän kehityksessä.

4.1.2 Liuottimet

Ei-vesiohenteisissa maaleissa liuottimena toimii yleensä jokin orgaaninen liuotin. Tyypillisimpiä orgaanisia liuottimia ovat erilaiset alkoholit sekä erimittaisten alifaattisten hiilivetyketjujen seoksista koostuvat lakkabensiinit. BTEX-yhdisteistä käytetään lähinnä etyylibentseeniä ja ksyleeniä. Myös vesiohenteisissa maaleissa saattaa olla pieniä määriä orgaanisia liuottimia apuliuottimina.

Liuottimen osuus maalissa on n. 40 % [28.]. Maalien liuottimet ovat pääsääntöisesti VOC-yhdisteitä, jolloin niitä on headspace-menetelmää käytettäessä läsnä näytepullon kaasufaasissa. Koska liuottimet ovat helposti höyrystyviä ja monet niistä sisältävät C-H -sidoksia, näkyvät liuottimet kromatogrammeissa. Tästä syystä liuottimien läsnäolo on otettava huomioon näytematriisin vaikutusta arvioitaessa.

4.1.3 Pigmentit, täyteaineet ja lisäaineet

Maaleissa käytettävät pigmentit voivat olla orgaanisia tai epäorgaanisia. Yleisin on titaanidioksidi (TiO_2), jota käytetään valkoisena pigmenttinä. Myös sinkkivalkoista, eli sinkkioksidia (ZnO), käytetään. Täyteaineet ovat mineraaleja, kuten dolomiittia, kalkkikiveä tai liitua. Niitä käytetään maalin sää- ja mekaanisen rasituksen kestävyysparantamiseksi, sekä maalin kiiltoasteen säätämiseksi. [31.]

Maalin lisäaineet ovat yhdisteitä, jotka vaikuttavat lähinnä maalin säilyvyyteen ja työstettävyyteen. Biosidit estävät mikrobien kasvua varastoinnin aikana, ja fungisidit toimivat kuivan maalikalvon homeenestoaineina. Kuivikkeet ovat metallisia katalyyttejä, jotka nopeuttavat hapettumalla kuivuvien maalien kuivumista. Vaahdonestäjät ja sakeuttamisaineet parantavat maalin työstettävyyttä, ja emulgointiaineet edistävät maalin tasalaatuisuutta. [31.]

Analyytit saattavat adsorboitua pigmentti- sekä täyteainepartikkelien pintaan. Pigmenttien ja täyteaineiden osuus maalissa on n. 30 %, joten niiden läsnäolo näytematriisissa on huomioitava [28.]. Lisäaineiden osuus maalissa on n. 1–3 %, joten niillä ei oleteta olevan merkittävää vaikutusta menetelmän toimivuuteen [32.].

4.2 Headspace-laitteen toiminta

Headspace-menetelmät voidaan luokitella sekä toimintaperiaatteen että injektiotekniikan mukaan. Toimintaperiaatteen mukaan menetelmät luokitellaan joko staattisiksi tai dynaamisiksi. Yleisimmät injektiotekniikat ovat ruiskuinjektio-, paineistus- ja painesilmukajärjestelmä.

4.2.1 Staattinen ja dynaaminen headspace

Staattinen headspace-menetelmä sisältää kaksi vaihetta: näytepullon tasapainotuksen vakio-lämpötilassa ja näytteen injektioon. Staattinen headspace-järjestelmä on oletuksena injektion aikana isobaarinen ja isoterminen. Näyte voidaan injektoida suoraan kaasukromatografian kolonniin, mutta myös adsorptioon perustuvia näytteenkäsittelytekniikoita, kuten SPME:a voidaan käyttää. [21.]

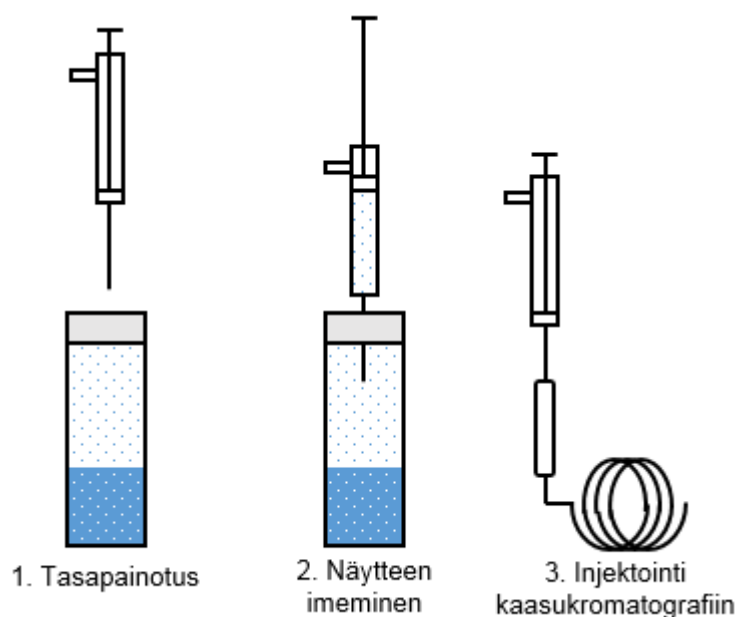
Dynaamisen headspace-menetelmän periaatteena on jatkuvaan inertin kaasun virtaukseen perustuva kaasu-uutto. Kiinteiden tai nestemäisten näytteiden ollessa kyseessä kaasuvirtaus kulkee näytteen yllä. Kaasuvirtaus voidaan johtaa myös nestemäisen näytteen läpi. Koska tehokas uutto edellyttää korkeaa kaasun virtausnopeutta, näyte laimenee merkittävän laimeaksi ja kaasuvirtaus on johdettava loukkuun analyyttien fokuksimiseksi. Adsorptioloukku voi olla joko kylmäloukku tai adsorbenttiin perustuva. Tällaista tekniikkaa kutsutaan *purge & trap (P&T)* -menetelmäksi. [15.]

P&T-menetelmään verrattuna staattiset HS-menetelmät ovat yksinkertaisia ja hyvin automatisoitavia. P&T-menetelmät ovat merkittävästi herkempiä staattisiin menetelmiin verrattuna, ja niillä voidaan tehokkaasti eliminoida matriisivaikutus; tämä tosin edellyttää analyyttien täydellistä erottamista, mikä on käytännössä vaikea saavuttaa. P&T-menetelmät ovat staattisiin verrattuna monimutkaisia ja vievät paljon aikaa. Staattisten menetelmien herkkyyttä voidaan parantaa merkittävästi kylmäloukulla.

4.2.2 Injektiomenetelmät

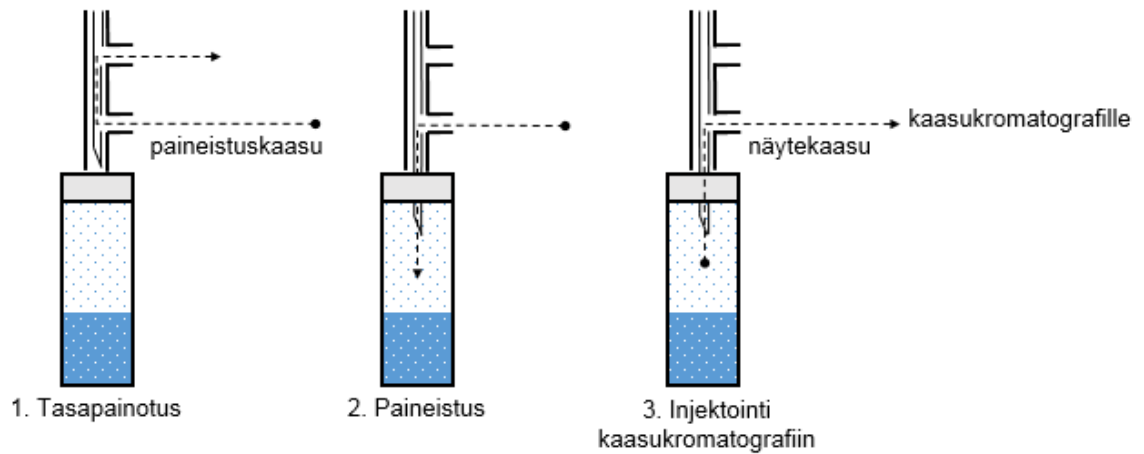
Ruiskuinjektiojärjestelmässä (*syringe injection*) kaasutiiviin ruiskun neula lävistää tasapainotetun näytepullon septumin, jonka jälkeen ruisku imetään täyteen. Ruisku tyhjennetään suoraan kaasukromatografian injektoriin. Ruiskuinjektio voi olla sekä automatisoitu että manuaalinen, ja yksinkertaisimmillaan ruiskuinjektion voi suorittaa ilman erillistä HS-laitetta pelkän lämpöhauteen ja kaasutiiviin ruiskun avulla. Manuaalinen ruiskuinjektio on hyvin yksinkertainen, mutta epäluotettava menetelmä, sillä käsikäyttöinen ruisku ei ole tarkkuudeltaan riittävä kvantitatiiviseen analyysiin. Lisäksi ilman asianmukaista uunin näytepullon tasapainottuminen on epätasaista, ja vedettäessä kaasua näytepullon viileämpään ruiskuun voi analyyttejä kondensoitua ruiskun sisäpintaan, jos ruiskua ei erikseen lämmitetä. Automaattinen ruiskuinjektio on

manuaalista tarkempi ja toistettavampi tarkemman näytetilavuuden johdosta, mutta ruiskuun muodostuvan ylipaineen takia aiheutuu näytehäviötä. [22;23.]



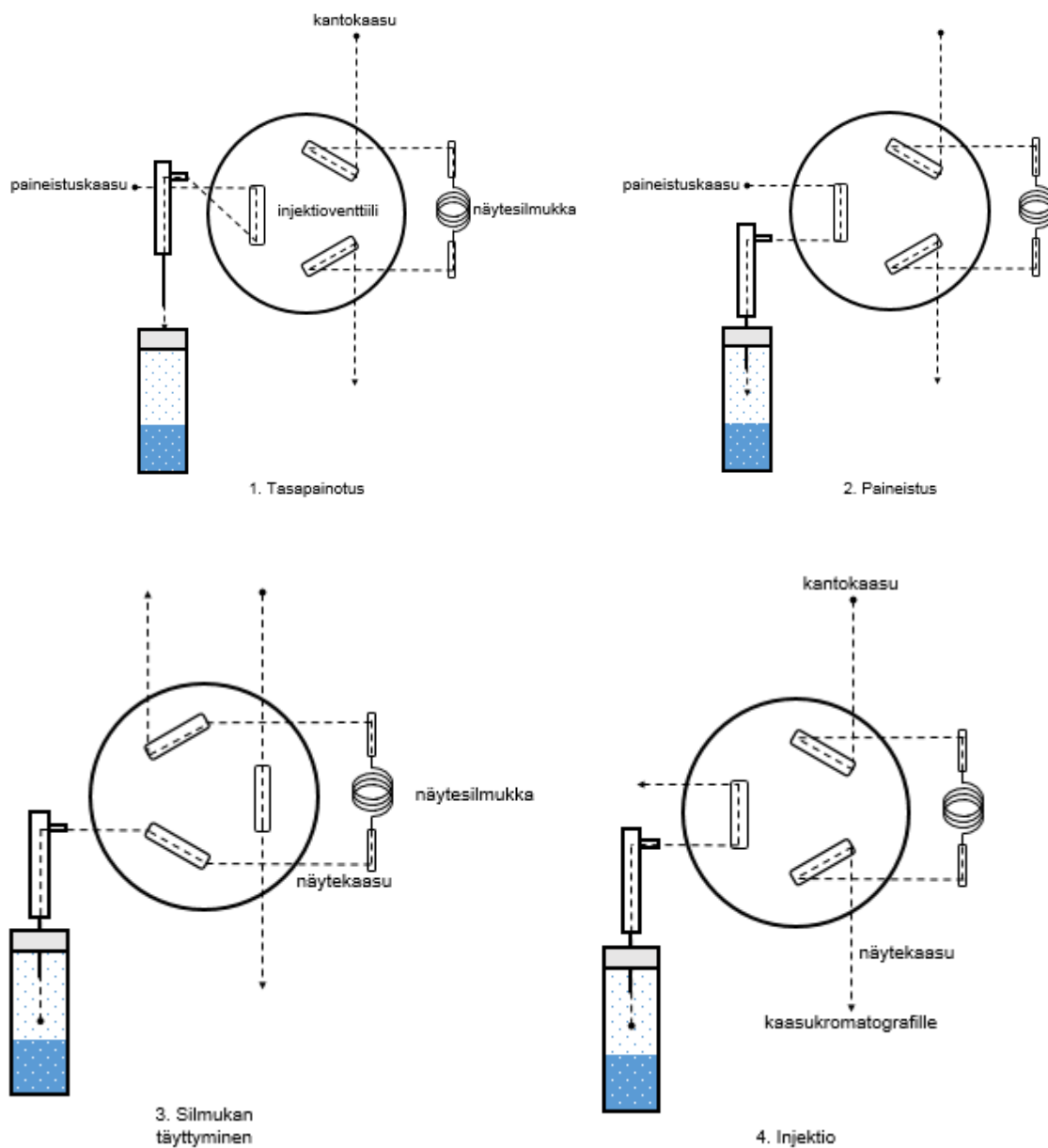
Kuva 1. Ruiskuinjektiojärjestelmä [22;23.]

Paineistusjärjestelmässä (*balanced pressure*) näytepullo tasapainotetaan uunissa. Neula lävistää tasapainotetun näytepullon septumin, jolloin kantokaasua virtaa ontton neulan läpi pulloon. Paineistuksen jälkeen kantokaasu ohjataan venttiilillä pois näytepullostasta, ja näytekaasu virtaa määrätyn ajan venttiilin läpi siirtolinjaan ja kaasukromatografian kolonniin. Menetelmä on liikkuvien osien vähäisyyden johdosta toistettava, mutta epävarmuutta aiheutuu injektointiajan epätarkkuuksista, joiden johdosta tarkka näytetilavuus voi olla heikosti määritettävissä. Linjoihin saattaa myös jäädä analyytteja ja epäpuhtauksia, jotka saattavat aiheuttaa kromatogrammeihin epätoivottuja piikkejä. [22;23.]



Kuva 2. Paineistusjärjestelmä [22;23.]

Painesilmukkajärjestelmä (*pressure loop*) perustuu injektioventtiiliin, joka ohjailee injektorin kaasuvirtauksia, sekä näytesilmukkaan, jolla injektoidavan näytekaasun tilavuus vakioidaan. Näytepullo tasapainotetaan uunissa, jonka jälkeen ontto neula lävistää septumin ja paineistuskaasu paineistaa pullon. Paineistuskaasuvirtaus ohjataan venttiileillä pois pullosta, jolloin ylipaineinen näytekaasu virtaa ulos pullosta. Näytekaasu ohjataan venttiileillä näytesilmukkaan, jossa näytekaasu tasapainottuu määrätyn ajan vakio-lämpötilassa, joka on kondensoitumisen estämiseksi hieman pullon tasapainotuslämpötilaa korkeampi. Silmukan tasapainottumisen jälkeen kantokaasu ohjataan venttiileillä näytesilmukkaan, jolloin kantokaasu työntää näytekaasun siirtolinjan kautta kaasukromatografian kolonniin. Koska näytesilmukka ja siirtolinja ovat termostoituja, injektoidavan näytekaasun kondensoituminen linjoihin on vähäistä. Painesilmukkajärjestelmän toistettavuus on näytesilmukan vakiotilavuuden johdosta korkea, mutta yhdisteiden kertyminen linjoihin saattaa aiheuttaa ylimääräisiä piikkejä kromatogrammeihin. [22;23.]



Kuva 3. Painesilmukkajärjestelmä [22;23.]

4.3 Laitteiston kuvaus ja headspace-laitteen parametrit

Kehitettävän menetelmän headspace-laitteena toimi Agilent 7694, joka oli yhdistetty Agilent 7890A -kaasukromatografiin. Käytetty headspace-laite on tyypiltään staattinen painesilmukkajärjestelmä. Kaasukromatografi oli varustettu kahdella rinnakkaisella kolonnilla. Kolonni 1 oli poolinen (HP-INNOWax) ja kolonni 2 pooliton (DB-1701). Detektorityyppi oli liekki-ionisaatiodetektor.

Menetelmän kehitys painottui menetelmän ominaisuuksien optimointiin headspace-laitteen parametreja säätämällä. Agilent 7694 -headspace-laitteen säädettävät parametrit on esitetty käännöksineen taulukossa 3.

Taulukko 3. Headspace -laitteen parametrit [33.]

suom.	eng.
GC-syklin pituus	GC cycle time
tasapainotuslämpötila	vial temperature
tasapainotusaika	equilibration time
näytesilmukan lämpötila	loop temperature
siirtolinjan lämpötila	vial equilibration time
paineistusaika	pressurization time
silmukan täyttöaika	loop fill time
silmukan tasapainotusaika	loop equilibration time
injektointiaika	injection time
ravistin	shaker

Tasapainotuslämpötila on se lämpötila, johon HS -näytepullo lämmitetään tasapainottumisen ajaksi. Tasapainotuslämpötilan nostaminen laskee jakaantumiskerrointa K, jolloin korkeampi tasapainotuslämpötila johtaa pääsääntöisesti korkeampiin analyytin pitoisuuksiin kaasufaasissa. Tasapainotuslämpötilan ei tule ylittää käytettävän liuottimen kiehumispistettä, paitsi käytettäessä erikoistekniikoita, joissa pyritään koko näytetilavuuden höyrystämiseen. Suosituksena on, että tasapainotuslämpötila olisi 10 °C liuottimen kiehumispistettä alempana. [21; 33.]

Tasapainotusaika on sen aikavälin pituus, jonka aikana analyytit jakaantuvat jakautumiskertoimen K mukaisesti kaasu- ja näytefaasin välille. [21;33.] Tasapainotusaika valitaan näytematriisin mukaisesti: kokonaan nestemäiset näytteet, joiden analyytit ovat herkästi haihtuvia, saadaan tasapainottumaan lyhyemmässä ajassa kuin kiinteät tai heikommin haihtuvia analyyttejä sisältävät näytteet. Tasapainotusaikaa ei suositella asetettavaksi tarpeettoman pitkäksi, ettei kaasufaasissa tapahdu analyyttien hajoamista.

Näytesilmukan ja siirtolinjan lämpötila asetetaan tavanomaisessa HS –menetelmässä tasapainotuslämpötilaa korkeammaksi siten, että siirtolinjan lämpötila on hieman näytesilmukan lämpötilaa korkeampi. Tarkoituksena on, ettei näyte kondensoidu silmukkaan tai siirtolinjaan. [33.]

Paineistusaika on se aika, jonka verran apukaasua virtaa HS –näytepulloon. Tarkoituksena on saada HS -näytepulloon ylipaine, jonka johdosta näytekaasu virtaa näytesilmukkaan. Nestemäisille näytteille riittää usein niiden itsensä muodostama paine, kun taas kiinteät tai heikosti haihtuvat näytteet saattavat vaatia pidemmän paineistusajan riittävän paineen aikaansaamiseksi. Pidempi paineistusaika parantaa toistettavuutta, sillä apukaasun virtaus näytepulloon on enemmän laminaarinen kuin turbulenttinen, jolloin pidempi paineistusaika mahdollistaa paremman systeemin tasapainottumisen. Pidempi paineistusaika myös laimentaa kaasufaasia, jolloin menetelmän herkkyyttä voidaan tehostaa helposti höyrystyvien analyyttien ollessa kyseessä. Liian suuri paine HS -näytepullossa voi kuitenkin vaurioittaa HS -laitetta [33.] ja siirtää heikosti höyrystyvien analyyttien tasapainoa näytestaasin puolelle. Tästä syystä paineistusaikaa on varottava asettamasta liian pitkäksi: etenkin, jos näytemäärä on suuri, so. faasisuhde β on pieni. [21.]

Silmukan täyttöaika on se aika, jonka verran HS –näytepullon kaasufaasin ja paineistuskaasun seosta virtaa näytesilmukan läpi ulostuloventtiiliin. Lyhyempi aika jättää enemmän painetta silmukkaan, jolloin analyyttiä voidaan injektoida isompi määrä. Pidempi aika tasapainottaa paineen ympäröivään ilmanpaineeseen. [33.]

Silmukan tasapainotusaika on se aikaväli, jonka aikana näytesilmukan analyytit tasapainottuvat korkeampaan lämpötilaan [33.]. Tasapainotuksen aikana myös silmukan sisäinen paine ja virtaus tasaantuvat.

Injektointiaika on se aika, jossa näytesilmukan sisältämät kaasut injektoidaan kaasukromatografiin. Injektointiajan tulee olla riittävän pitkä koko näytteen siirtämiseksi: liian lyhyt injektointiaika laskee menetelmän herkkyyttä menetetyn näytemäärän takia. [33.]

Ravistimen tarkoitus on agitoida näytettä tasapainottumisen aikana, jolloin näytestaasin välisen tasapainon saavuttaminen tehostuu [33.]. Ravistinta on perusteltua käyttää erityisesti analysoidessa näytteitä, joissa on paljon kiinteää ainesta, joka voi kasautua näytepullon pohjalle ja vaikuttaa menetelmän toistettavuuteen.

5 Menetelmän kehitys ja validointi

5.1 Menetelmän kuvaus

Menetelmän kehityksen tarkoitus oli kehittää HS-GC-FID-tekniikkaan perustuva menetelmä, jolla voidaan analysoida totaali-BTEX-konsentraatio tehtaan jätevedestä mittausalueella 0,4–100 ppm. Menetelmän tuli olla näytteenkäsittelyltään mahdollisimman yksinkertainen yksittäistä näytettä kohden käytettävän työajan minimoimiseksi. Kaasukromatografinen erotus, tunnistus ja kvantitointi oli tarkoitus toteuttaa kahdella kolonnilla, joista toinen on poolinen ja toinen pooliton. BTEX-yhdisteiden poolittomuuden johdosta kvantitoinnin oli tarkoitus tapahtua ensisijaisesti poolittoman kolonnin perusteella; poolista kolonnia käytettiin ensisijaisesti yhdisteen tunnistamiseen. Koska FID ei itsessään tuota tarpeeksi spesifistä vastetta ja näytematriisin koostumuksen takia voi analyytin kanssa samanaikaisesti eluoitua muitakin yhdisteitä, täytyy analyytin olla tunnistettavissa molemmilla kolonneilla, jotta voidaan poissulkea se mahdollisuus, että piikin on saanut aikaan jokin näytematriisin komponentti, jolla on jommallakummalla kolonnilla sama retentioaika kuin analytyillä. Kvantitoinnissa käytettiin matriisivaikutuksen takia sisäisen standardin menetelmää.

5.2 Menetelmän kehityksen parametrit

Menetelmän kehityksen parametrit liittyivät näytteen esikäsittelyyn sekä HS –laitteen parametreihin. Menetelmän kehityksen tarkoituksena oli tutkia, mitkä tekijät ja olosuhteet vaikuttavat menetelmän herkkyyteen ja toistettavuuteen, ja tätä kautta määrittää menetelmälle soveltuvimmat parametrien arvot.

5.2.1 Tasapainotuslämpötila

Tasapainotuslämpötila vaikuttaa yhdisteen jakautumiseen näyte- ja kaasufaasin välillä, joka puolestaan on yhteydessä analyyttipiikkien pinta-aloihin. Tasapainotuslämpötilan säätämällä pyrittiin löytämään lämpötila, jossa analyyttien tasapaino on mahdollisimman paljon kaasufaasin puolella, mutta jossa näytematriisin pääkomponentin, veden, kiehumispiste ei ylity.

5.2.2 Suolanlisäys

Analyytin aktiivisuuskertoimen γ on yhteydessä yhdisteen jakautumiskertoimeen K . Lisäämällä vahvaa elektrolyyttiä näytteeseen testattiin γ :n muutosten vaikutusta yhdisteiden erottumiseen ja sitä kautta piikkien pinta-aloihin.

5.2.3 Paineistusaika

Koska apukaasun virtaus näytepulloon on enemmän laminaarinen kuin turbulenttinen, voidaan paineistusaikaa muuttamalla vaikuttaa toistettavuuteen. Testaamalla rinnakkaisnäytteitä eri paineistusajoilla pyrittiin selvittämään paineistusajan muutosten vaikutusta menetelmän toistettavuuteen.

5.2.4 Ravistin

Useimmissa HS-laitteissa on mahdollista kytkeä tasapainotuksen ajaksi päälle näytepullon ravistelu -toiminto. Ravistelulla pyritään parantamaan menetelmän toistettavuutta tehostamalla analyyttien erottumista näytematriisista. Ravistimen käyttö on perusteltua erityisesti paljon kiinteää ainesta sisältävien näytteiden ollessa kyseessä.

5.2.5 Näytemäärä

Näytemäärää lisätessä analyyttien totaaliainemäärä systeemissä kasvaa. Samoin faasisuhde β laskee, jolloin analyytin konsentraatio kaasufaasissa kasvaa. Testaamalla samaa näytettä eri näytemäärillä pyrittiin löytämään näytemäärä, jolla analyyttipiikkien pinta-ala olisi mahdollisimman suuri.

5.2.6 Sisäinen standardi

Matriisivaikutuksen vuoksi menetelmää kehitettiin sisäisen standardin menetelmäksi. Toistettavuuden optimoimiseksi standardin erottuvuuden näytematriisista tuli olla mahdollisimman lähellä analyyttejä. Sisäisen standardin ainemäärän tuli olla tasolla, jolla se tuottaa piikin, jonka pinta-ala on soveltuvalla tasolla analyyttipiikkien pinta-aloihin verrattuna.

5.3 Validointi ja validoinnin parametrit

Menetelmän validoinnissa pyrittiin validoimaan ne parametrit, joissa oletettiin tapahtuvan muutoksia siirryttäessä liuosinjektiosta headspace-injektioon. Tällaisia ovat menetelmän herkkyyteen, toistettavuuteen ja mittausalueeseen liittyvät parametrit. Koska validoitavan menetelmän selektiivisyys ja spesifisyys ovat ensisijaisesti riippuvaisia GC-ohjelmasta, ei niitä tämän työn yhteydessä erikseen validoitu, koska kehitettävän menetelmän perustana oli validoitu liuosinjektiomenetelmä, jonka GC-ohjelmaan ei tehty muutoksia.

5.3.1 Lineaarisuus ja mittausalue

Lineaarisuudella tarkoitetaan analyytin pitoisuuden ja analyysimenetelmän tuottaman vasteen lineaarista korrelaatiota. Lineaarisuuden kautta määritetään menetelmän mittausalue, jolla tarkoitetaan sitä pitoisuusaluetta, jolla menetelmä tuottaa hyväksyttävän tarkan vasteen. Mittausalueen yhteydessä määritetään menetelmän toteamis- sekä määritysraja, LoD ja LoQ. LoD on alin pitoisuus, joka menetelmällä voidaan kvalitatiivisesti todeta, ja LoQ on analyytin alin pitoisuus, jolla menetelmällä voidaan kvantitatiivisesti todeta. [34, s. 28–30.]

5.3.2 Tarkkuus

Menetelmän tarkkuudella tarkoitetaan menetelmän tuottaman vasteen ja todellisen arvon yhdenpitävyyttä. Tarkkuus määritetään arvioimalla sekä satunnais- että systemaattisia virheitä tutkimalla menetelmän oikeellisuutta ja toistotarkkuutta. Oikeellisuudella tarkoitetaan useiden mittausten keskiarvon yhtäpitävyyttä todellisen arvon kanssa, ja se ilmoitetaan yleensä poikkeamana sovittun tosiarvoon. [34, s. 35–36.]

5.3.3 Toistettavuus

Toistettavuudella tarkoitetaan toistettavissa olosuhteissa lyhyellä aikavälillä tehtyjen määritysten tulosten täsmällisyyttä. Toistettavuus määritetään tutkimalla useista rinnakkaismäärityksistä koostuvien näytesarjojen sisäistä ja sarjojen välistä hajontaa. [34, s. 37.]

5.4 Näytteiden esikäsittely

Menetelmää kehitettäessä näytteiden esikäsittelytoimenpiteet suoritettiin seuraavasti: näyte sekoitettiin huolellisesti ravistelemalla suljettua astiaa, jonka jälkeen astia avattiin. Näytettä sekoitettiin vielä pipetillä ennen pipetointia. Näyte punnittiin pipetoimalla tarkka määrä näytettä suoraan HS-näytepulloon. Näytepulloon lisättiin täyspipetillä sisäistä standardia, jonka jälkeen näytepullo suljettiin. Näytepullon korkin tiiveys tarkistettiin kokeilemalla korkin liikkuvuutta; jos korkkia pystyi pyörittämään sormin, oli korkki liian löysällä ja näin ollen kiristettävä. Tämän jälkeen näytepulloa sekoitettiin pyörresekoittimessa n. 1 min ennen HS-laitteeseen asettamista. Analysoitavien näytteiden vaihtelevan tiheyden ja herkästi haihtuvien komponenttientakia näytemäärä mitattiin massana, jotta näytemäärä olisi mahdollisimman tarkka ja toistettava. Näytteen esikäsittelyssä kiinnitettiin erityistä huomiota työskentelyn nopeuteen, jotta analyyttejä ei pääsisi haihtumaan näytteestä esikäsittelyn aikana.

5.5 Kalibrointiliuokset

Kalibrointiliuokset valmistettiin punnitsemalla tarkka määrä ultrapuhdasta vettä HS-näytepulloon. Standardiliuosta pipetoitiin täyspipetillä vialiin, jonka jälkeen näytepullo suljettiin. Korkin tiiveys tarkastettiin, ja kalibrointiliuosta vorteksoitiin n. 1 min ennen HS-laitteeseen asettamista.

5.6 GC-parametrit

Menetelmän kehityksessä ja validoinnissa käytettiin kaasukromatografiohjelmaa, jonka ajoparametrit on esitetty taulukossa 4. Kaasukromatografian lämpötilaohjelma on esitetty taulukossa 5.

Taulukko 4. GC -ajoparametrit

Split-virtaus	30:1
Injektorin lämpötila, °C	250
Injektorin paine, psi	7,5
Kokonaisvirtaus, mL/min	31,767
Septumin huuhtelu, mL/min	3
Kolonnin paine, psi	7,5

Ajoaika, min	36
FID –lämpötila, °C	250

Taulukko 5. GC -lämpötilaohjelma

Lämpötilaohjelma	rate (°C/min)	value (°C)	hold time (min)	run time (min)
start		40	0	
ramp 1	5	90	5	15
ramp 2	10	250	5	36

5.7 Käytetyt reagenssit ja välineet

Työssä käytettiin seuraavia reagensseja ja välineitä:

Reagenssit

- Ultrapuhdas vesi (Direct Q3, Millipore)
- Metanoli (T, F) Merck ≥ 99,5%, GC
- Bentseeni (T, F, syöpää aiheuttava) Merck ≥ 99,5%, GC
- Tolueeni (X_n, F) Merck ≥ 99,5%, GC
- Etyylibentseeni (X_n, F) Merck ≥ 99,5%, GC
- m-Ksyleeni (X_n) Acros Organics ≥ 99+%
- p-Ksyleeni (X_n) Acros Organics ≥ 99%
- o-Ksyleeni (X_n) Acros Organics ≥ 99%
- Isoamyylialkoholi (X_n, F)
- Sykloheksaani (X_n, F, N)

Välineet

- 20 ml:n headspace-pulloja ja Al-korkkeja silikoni/PTFE-tiivisteellä
- 0,5 ml:n täyspipettejä
- Lasisia pasteur-pipettejä
- Analyysivaaka
- Pyörresekoitin
- Agilent 7694 headspace-laite
- Agilent 7890S -kaasukromatografi

6 Tulokset

6.1 Menetelmän kehitys

Menetelmän kehityksessä pyrittiin määrittämään olosuhteet ja toimenpiteet, joilla menetelmälle saavutetaan maksimaalinen herkkyys ja toistettavuus. Menetelmän herkkyyden maksimoimiseksi testattiin toimenpiteitä, joiden oletettiin vaikuttavan analyytin erottumiseen näytematriisista, ja sitä kautta vaikuttavan piikkien pinta-aloihin. Toistettavuuden optimoimiseksi kokeiltiin toimenpiteitä ja olosuhteita, joiden kautta rinnakkaisnäytteiden vasteiden välinen keskihajonta saatiin mahdollisimman pieneksi. Testien tulokset analysoitiin ajon jälkeen, ja niiden perusteella päätettiin jatkotoimenpiteistä. GC-syklin pituus on parametri, jota muutettiin yhtä näytettä kohden kuluvan ajoajan lyhentämiseksi, eikä sillä ole suoraa vaikutusta mittaustuloksiin. HS-laitteen parametrit alku- ja lopputilanteessa on esitetty taulukossa 6.

Taulukko 6. HS-laitteen parametrit alku- ja lopputilanteessa

Parametri	Arvo alkutilanteessa	Arvo lopputilanteessa
GC-syklin pituus	70 min	65 min
tasapainotuslämpötila	80 °C	95 °C
näytesilmukan lämpötila	90 °C	110 °C
siirtolinjan lämpötila	110 °C	120 °C
tasapainotusaika	15 min	15 min
paineistusaika	0,2 min	1 min
silmukan täyttöaika	0,2 min	0,2 min
silmukan tasapainotusaika	0,05 min	0,05 min
injektointiaika	1,0 min	1,0 min
ravistin	pois päältä	päällä
näytteen määrä	4000 ±10 mg	4000 ±10 mg
suolan määrä	0 mg	0 mg

6.1.1 Lämpötila

Analyyttipiikkien pinta-alaa pyrittiin parantamaan tasapainotus-, näytesilmukan sekä siirtolinjan lämpötilan nostamisella. Lämpötilan nostamisen vaikutusta testattiin kahdesta erivahvuisesta standardiliuoksesta valmistetuilla näytteillä. Laimeammasta liuoksesta tehdyt näytteet eivät tuottaneet matalammassa lämpötilassa ollenkaan vastetta. Lisäksi bentseeni ei erottunut vahvemmastakaan näytteestä. Korkeammassa lämpötilassa

saatiin kaikista analyyteistä vaste kummallakin kolonnilla. Muutoksen suuruus laskettiin kaavalla

$$\Delta A (\%) = \frac{A_1 - A_0}{A_0} * 100 = \frac{\Delta A}{A_0} * 100, \text{ jossa} \quad (7)$$

$\Delta A (\%)$ = muutoksen suuruus prosentteina

A_0 = analyyttipiikin pinta-ala lähtötilanteessa ja

A_1 = analyyttipiikin pinta-ala lopputilanteessa.

Vahvemmassa liuksesta tehtyjen näytteiden perusteella lämpötilan nostaminen vaikutti yhdisteiden erottumiseen merkittävästi: korkeammilla lämpötiloilla mitattujen piikkien pinta-alat olivat monikymmenkertaisesti lähtötilannetta korkeammat. Tulosten perusteella menetelmän kehitystä jatkettiin käyttämällä korkeampia lämpötiloja. Laitteen valmistajan suositus on, että tasapainotuslämpötila olisi 10 °C:a liuotimen kiehumispistettä alhaisempi [33.], mutta tässä tapauksessa katsottiin aiheelliseksi pitää tasapainotuslämpötila mahdollisimman korkeana, jotta analyyttien erottuminen voitiin maksimoida.

Lämpötilaparametrien vaikutusta testattaessa näytemäärä oli poikkeuksellisesti 3000 ±10 mg, ja tasapainotusaika 30 min. Lämpötilaparametrien alku- ja lopputilanteet on kuvattu taulukossa 7, ja lämpötilaparametrien muutosten vaikutukset on kuvattu taulukossa 8. Tasapainotuslämpötilatestien vasteet on esitetty liitteessä 1.

Taulukko 7. Lämpötilaparametrien alku- ja lopputilanteet

	Tasapainotus- lämpötila (°C)	Näytesilmukan lämpötila (°C)	Siirtolinjan lämpötila (°C)
Lähtötilanne	80	90	110
Lopputilanne	95	110	120

Taulukko 8. Lämpötilaparametrien muutosten vaikutukset

Analyytti	$\Delta A (\%)$	
	poolinen	pooliton
tolueeni	7600	13600
etylibentseeni	5800	7400
p-ksyleeni	6000	4500
m-ksyleeni	5300	4300
o-ksyleeni	5800	4100

6.1.2 Suola

Suolanlisäyksen vaikutusta analyyttipiikkien pinta-alaan tutkittiin kokeilemalla suolanlisäystä kolmella eri tasolla. Suolanlisäyksen johdosta piikkien pinta-ala nousi pääsääntöisesti. Bentseenin osalta suolanlisäyksen vaikutusten tarkastelu oli mahdollista vain poolittoman kolonnin osalta, sillä poolisella kolonnilla ei bentseenipiikkejä kyetty havaitsemaan. Tasapainotuslämpötilan ollessa alhaisempi voidaan suolanlisäyksen vaikutuksen olettaa olevan merkittävämpi, mutta koska tasapainotuslämpötila oli suolanlisäykestestijä suoritettaessa maksimiarvossaan, ei suolanlisäyksellä ollut merkittävää vaikutusta vasteisiin. Suolanlisäyksen aikaansaaman piikkien pinta-alan kasvun ei katsottu olevan riittävän suurta, joten suolanlisäystä ei pidetty aiheellisenä käyttää jatkossa; suolanlisäys lisäsi pohjaviivan kohinaa, ja lisäksi suolaa käytettäessä HS-laite tarvitsee ajon yhteydessä ylimääräisiä huoltotoimenpiteitä, jotta kiteytynyttä suolaa ei kerry laitteiston linjoihin.

Suolanlisäystä testatessa lämpötilaparametrit oli säädetty aikaisempien testien mukaiseen optimiarvoon. Näytemäärä oli 4000 ± 10 mg. Suolanlisäykestestien vasteet on esitetty liitteessä 2, ja suolanlisäyksen vaikutukset piikkien vasteisiin on esitetty taulukossa 9. Muutoksen suuruus laskettiin kaavalla

$$\Delta A (\%) = \frac{A_n - A_0}{A_0} * 100 = \frac{\Delta A}{A_0} * 100, \text{ jossa} \quad (8)$$

$\Delta A (\%)$ = muutoksen suuruus prosentteina

A_0 = analyyttipiikin pinta-ala lähtötilanteessa ja

A_n = analyyttipiikin pinta-ala suolanlisäyksen jälkeen.

Taulukko 9. Suolanlisäyksen vaikutukset vasteisiin

Kolonne	Analyytti	Suolan lisäys (mg)		
		150	1000	1500
		ΔA (%)		
poolinen	Tolueeni	16,5	14,0	13,9
	Etyylibentseeni	10,6	11,1	10,8
	p-ksyleeni	13,9	19,0	19,4
	m-ksyleeni	16,2	12,4	14,9
	o-ksyleeni	35,4	18,9	15,3
pooliton	Bentseeni	16,6	0,7	-3,8
	Tolueeni	11,6	16,3	11,74
	Etyylibentseeni	22,4	8,9	16,7
	p- ja m-ksyleeni	19,3	8,2	9,6
	o-ksyleeni	15,1	13,8	8,6

6.1.3 Paineistusaika

Menetelmän toistettavuutta pyrittiin parantamaan näytepullon paineistusaikaa pidentämällä. Alkutilanteessa paineistusaika oli 0,2 min, josta se pidennettiin 1 minuuttiin. Tuloksena havaittiin absoluuttisen vasteen kasvavan sekä suhteellisen keskihajonnan laskevan. Paineistusajan pidentämisen vaikutusta testattiin kahdella eri näytevedellä, joista tehtiin 3 rinnakkaisnäytettä ajoa kohden. Osa keskihajontojen välisistä eroista saattaa selittyä kontaminanteilla, jotka eluoituivat joidenkin analyyttien kanssa samanaikaisesti. Kontaminantteja ei kuitenkaan havaittu kaikissa näytteissä, joten on mahdollista, että kyse oli HS-laitteen linjoihin kertyneestä analyytistä. Näytesarjassa oli yksi selvästi epäonnistunut näyte, jota ei ole huomioitu tuloksia laskettaessa. Tulosten perusteella menetelmän kehitystä jatkettiin käyttäen pidempää paineistusaikaa.

Paineistusajan pidentämistä testatessa lämpötilaparametrit oli säädetty aikaisempien testien mukaiseen optimiarvoon. Näytemäärä oli 4000 ± 10 mg. Paineistusaikatestien vasteet on esitetty liitteessä 3, ja paineistusajan pidentämisen tulokset vasteiden suhteellisina keskihajontoina on esitetty taulukossa 10. Testeissä käytetyt näytteet eivät sisältäneet bentseeniä tai tolueenia.

Taulukko 10. Paineistusajan pidentämisen tulokset

Näyte	Kolonne	Analyytti	Paineistusaika (min)	
			0,2	1
			Suht. keskihajonta (%)	
Näyte 1	poolinen	Etylibentseeni	34,2	6,4
		p-ksyleeni	17,2	15,3
		m-ksyleeni	17,5	9,7
		o-ksyleeni	10,5	4,7
	pooliton	Etylibentseeni	9,7	6,3
		p- ja m-ksyleeni	7,5	7,2
		o-ksyleeni	1,2	5,6
Näyte 2	poolinen	Etylibentseeni	12,1	3,5
		p-ksyleeni	6,4	2,7
		m-ksyleeni	10,5	4,7
		o-ksyleeni	2,3	4,3
	pooliton	Etylibentseeni	6,9	5,2
		p- ja m-ksyleeni	5,3	0,8
		o-ksyleeni	6,4	3,6

6.1.4 Ravistin

Kytkemällä päälle näytepullon tasapainotuksen aikainen ravistus pyrittiin menetelmän toistettavuutta parantamaan. Tuloksena analyyttien vasteet kasvoivat, ja näytesarjojen vasteiden suhteellinen keskihajonta pääsääntöisesti laski. Ravistimen vaikutusta testattiin kahdella eri näytevedellä, joista tehtiin 3 rinnakkaisnäytettä ajoa kohden. Vahvemmassa näytteestä valmistetun näytesarjan osalta keskihajonnat pienenevät lähes yksiselitteisesti. Laimeammasta näytteestä valmistetun näytesarjan osalta tulokset olivat epätasaisempia, mutta pääsääntöisesti keskihajontojen voidaan todeta olevan pienempiä, kun ravistin on kytketty päälle. Absoluuttisten vasteiden voitiin todeta nousevan kummastakin näytteestä valmistettujen sarjojen osalta. Testien perusteella menetelmän kehitystä jatkettiin käyttäen näytteen ravistelua.

Ravistimen vaikutusta testatessa lämpötilaparametrit sekä paineistusaika oli säädetty aikaisempien testien mukaisiin optimiarvoihin. Näytemäärä oli 4000 ± 10 mg. Ravistintestien vasteet on esitetty liitteessä 4, ja testien tulokset on esitetty taulukossa 11. Koska testeissä käytetyt näytteet eivät sisältäneet bentseeniä tai tolueenia, ei näitä analyytteja esiinny tuloksissa.

Taulukko 11. Ravistimen vaikutus vasteisiin

Näyte	Kolonne	Analyytti	Ravistin	
			pois päältä	päällä
			Suht. keskihajonta (%)	
Näyte 1	poolinen	Etyylibentseeni	6,4	0,9
		p-ksyleeni	15,32	34,6
		m-ksyleeni	9,7	2,7
		o-ksyleeni	4,7	2,2
	pooliton	Etyylibentseeni	6,3	3,5
		p- ja m-ksyleeni	7,2	4,8
		o-ksyleeni	5,6	2,9
Näyte 2	poolinen	Etyylibentseeni	3,5	18,1
		p-ksyleeni	2,7	7,9
		m-ksyleeni	4,7	3,8
		o-ksyleeni	4,3	3,7
	pooliton	Etyylibentseeni	5,2	6,2
		p- ja m-ksyleeni	0,8	4,3
		o-ksyleeni	3,6	3,7

6.1.5 Näytteen määrä

Analyyttien konsentraatiota kaasufaasissa, ja sitä kautta analyyttipiikkien pinta-alaa, pyrittiin kasvattamaan näytteen määrää lisäämällä. Näytemäärän vaikutusta testattiin kahdesta eri vesinäytteestä valmistetuilla näytteillä, joista tehtiin 2–3 rinnakkaisnäytettä 6:lla eri näytemäärällä.

Näytemäärän lisäyksellä ei ollut odotettua vaikutusta, vaan piikkien pinta-alat ja menetelmän herkkyys laskivat näytemäärän lisäyksen tuloksena. Syy tähän ei selvinnyt, mutta näytepulloon muodostuvan paineen vaikutuksia voi epäillä vasteen laskun aiheuttajaksi. Korkea näytepullon sisäinen paine saattaa työntää analyytit niin nopeasti eteenpäin, että ne eivät ehdi pidäytyä näytesilmukkaan. Silmukan täyttöajan säätämisellä voidaan mahdollisesti vaikuttaa analyyttien pidättymiseen käytettäessä suurempia näytemääriä, mutta sitä ei tämän työn yhteydessä tutkittu. Pullon sisäinen paine saattaa myös siirtää analyyttien tasapainoa nestefaasin puolelle. Poikkeuksena muista havainnoista voitiin havaita näytteestä 1 poolisella kolonnilla analysoitujen o-ksyleenin pitoisuuksien kasvavan odotusten mukaisesti. Syy tähän tulokseen ei selvinnyt. Tulosten perusteella parhaiten soveltuvaksi näytemääräksi määritettiin 4000 ± 10 mg.

Näytemäärätestejä suoritettaessa lämpötila-, paineistusaika-, sekä ravistinparametrit oli säädetty aikaisempien testien mukaisiin optimiarvoihin. Näytemäärätestien vasteet on esitetty liitteessä 5, ja vasteiden pinta-alojen prosentuaaliset arvot näytesarjan suurimpaan arvoon verrattuna on esitetty taulukossa 12. Testeissä käytetyt näytteet eivät sisältäneet bentseeniä tai tolueenia.

Taulukko 12. Pinta-alojen prosentuaaliset pinta-alat näytemäärän mukaan suurimpaan arvoon verrattuna

Näyte	Kolonne	Analyytti	Näytemäärä (g)					
			4	6	7	9	11	13
			A (%:a suurimmasta)					
Näyte 1	poolinen	Etylibentseeni	100,0	73,4	61,6	23,8	13,3	0,0
		p-ksyleeni	45,3	69,5	34,2	56,1	67,7	100,0
		m-ksyleeni	100,0	75,6	62,5	25,3	14,4	3,4
		o-ksyleeni	100,0	76,1	63,7	24,8	13,2	3,2
	pooliton	Etylibentseeni	100,0	76,5	63,2	25,8	14,3	0,0
		p- ja m-ksyleeni	100,0	75,8	61,8	23,9	13,1	2,0
		o-ksyleeni	100,0	77,1	63,3	25,4	14,7	5,6
Näyte 2	poolinen	Etylibentseeni	100,0	80,4	68,9	39,6	24,7	14,1
		p-ksyleeni	100,0	93,9	80,3	49,3	24,2	13,9
		m-ksyleeni	100,0	88,5	75,5	43,9	32,6	31,3
		o-ksyleeni	100,0	93,0	72,5	40,5	25,3	14,8
	pooliton	Etylibentseeni	100,0	94,1	77,6	46,9	29,1	18,6
		p- ja m-ksyleeni	100,0	90,6	73,3	44,9	22,3	15,4
		o-ksyleeni	100,0	85,5	73,8	42,1	22,9	15,1

6.1.6 Sisäinen standardi

Menetelmän kehitys aloitettiin käyttämällä isoamyylialkoholia sisäisenä standardina. IAA on käytössä kehitettävän menetelmän pohjana olleessa liuosinjektiomenetelmässä, ja sen retentioaikojen tiedettiin olevan menetelmälle soveltuvat. Aluksi IAA:n määrä näytettä kohden oli 0,2 mg, mutta koska tämä määrä ei tuottanut tarpeeksi vahvaa vastetta, konsentraatiota nostettiin, kunnes soveltuvaksi määräksi määritettiin 5 mg näytettä kohden.

IAA:n rinnalla kokeiltiin sisäisenä standardina sykloheksaania. Sykloheksaania kokeiltiin, koska sen oletettiin jakautuvan eri faasien välille samankaltaisesti kuin analyytit, jolloin menetelmälle saadaan parempi toistettavuus. Sykloheksaanin retentioaikojen todettiin olevan menetelmälle soveltuvat, sillä sykloheksaani ei

kummallakaan kolonnilla eluoitunut samanaikaisesti jonkin analyytin kanssa. Soveltuvaksi ainemääräksi näytettä kohden määritettiin 0,25 mg.

Lähtötilanteessa standardiliuoksen lisätty tilavuus oli 2 ml. Koska liuottimena toiminut metanoli häiritsi mittausta tarpeettomasti, pyrittiin metanolin vaikutus minimoimaan lisättävää tilavuutta laskemalla. Lopulliseksi tilavuudeksi määritettiin 0,5 ml.

Sisäisen standardin vaikutusta testattiin 9 standardisuoralla, joissa näytteisiin oli lisätty kumpaakin sisäistä standardia. Sisäisiä standardeja vertailtiin laskemalla standardinäytesarjojen regressiosuorien kulmakertoimet erikseen kummallekin sisäiselle standardille ja tutkimalla kulmakertoimien välisiä keskihajontoja sekä kulmakertoimien selitysasteita.

Käytettäessä sykloheksaania sisäisenä standardina kulmakertoimien suhteellinen keskihajonta oli keskimäärin 10 %, kun taas IAA:a käytettäessä suhteellinen keskihajonta oli keskimäärin 17 %. Suorien selitysasteet olivat sykloheksaania käytettäessä marginaalisesti paremmat. Menetelmän kehitystä ja validointia jatkettiin käyttämällä sykloheksaania sisäisenä standardina. IAA:a ei kuitenkaan jätetty pois, sillä sen oletetaan olevan soveltuvampi standardi muille liuottimille, joita näytteistä saattaa löytyä, ja joiden analysointiin on tarkoitus kehittää vastaava menetelmä.

Sisäisten standardien vertailua suoritettaessa lämpötila-, paineistusaika-, ravistin-, sekä näytemääräparametrit oli säädetty aikaisempien testien mukaisiin optimiarvoihin. Vertailussa käytettyjen standardisuorien kulmakertoimet ja selitysasteet on esitetty liitteessä 6. Regressiosuorien kulmakertoimien suhteelliset keskihajonnat sekä suorien selitysasteiden keskiarvot on esitetty taulukossa 13.

Taulukko 13. Kulmakertoimien suhteelliset keskihajonnat sekä selitysteiden keskiarvot

Kolonne	Analyytti	Kulmakertoimien suht. keskihajonta (%)		Suoran selitysteiden keskiarvo	
		Sykloheksaani	IAA	Sykloheksaani	IAA
1	Bentseeni	8,2	17,2	0,9969	0,9909
	Tolueeni	10,2	20,4	0,9975	0,9927
	Etylibentseeni	10,6	19,6	0,9981	0,9945
	p-ksyleeni	10,6	18,7	0,9981	0,9942
	m-ksyleeni	10,5	18,6	0,9983	0,9943
	o-ksyleeni	10,2	17,2	0,9958	0,9921
2	Bentseeni	10,2	11,4	0,9971	0,9905
	Tolueeni	10,4	17,3	0,9987	0,9957
	Etylibentseeni	10,9	17,5	0,9982	0,9954
	p- ja m-ksyleeni	9,7	15,5	0,9978	0,9941
	o-ksyleeni	9,5	14,5	0,9981	0,9949
	Keskiarvo	10,1	17,1		

6.2 Validointi

Validoinnissa pyrittiin validoimaan ne parametrit, jotka liittyvät lineaarisuuteen ja mittausalueeseen, toistettavuuteen ja uusittavuuteen sekä tarkkuuteen. Validointiin siirryttiin suoraan menetelmän kehityksestä.

6.2.1 Lineaarisuus ja mittausalue

Menetelmän lineaarisuuden ja mittausalueen määrittämiseksi määritettiin standardisuorien residuaalit, kulmakertoimien ja leikkauspisteiden keskihajonnat, suorien selityste, sekä LoD ja LoQ. Residuaalit määritettiin vertaamalla yksittäisen mittauspisteen analysoitua pitoisuutta laskennalliseen pitoisuuteen. Matriisivaikutuksen takia LoD ja LoQ määritettiin residuaalien kautta, sillä nollanäytteiden vaste jäi matriisin aiheuttaman pohjaviivan kohinan alle, eikä määritystä voitu tehdä nollanäytteiden keskihajontojen kautta.

Standardisuoria tehtiin yhteensä 9, joista 2 samana päivänä. Standardisuoria varten valmistettiin yhteensä 4 sarjaa kantaliuoksia, joiden pitoisuudet sijoituivat välille 0,4–50 ppm. Koska matalien pitoisuuksien lineaarisuutta pidettiin menetelmän toimivuudelle olennaisempaa ja mittausalueen alapäähän haluttiin enemmän mittauspisteitä, valittiin mittausalueen korkeimmaksi pitoisuudeksi 50 ppm. Mittausalueelle valittiin 8

mittauspistettä. Kun havaittiin, että pienillä pitoisuuksilla standardisuoran kuvaajan lineaarisuus sekä tulosten keskihajonta heikkenevät, ja tulosten tulkinta hankaloitui, pyrittiin validoinnin edetessä valitsemaan matalien pitoisuuksien mittauspisteet siten, että menetelmän mittaustulos sekä lineaarisuus matalilla pitoisuuksilla olisivat mahdollisimman tarkasti määritettävissä.

Standardisuorien selitysasteiden keskiarvo ja mediaani ovat tyydyttävällä tasolla, joten menetelmän voidaan todeta olevan riittävän lineaarinen. Standardisuorien yhtälöt, esimerkki kalibrointikuvaajasta ja käytettyjen standardien pitoisuudet on esitetty liitteessä 7. Standardisuorien selitysasteiden keskiarvo ja mediaani on esitetty taulukossa 13.

Taulukko 14. Standardisuorien selitysasteiden keskiarvo ja mediaani

Kolonne	Analyytti	Selitysaste	
		Keskiarvo	Mediaani
1	Bentseeni	0,9969	0,9980
	Tolueeni	0,9975	0,9970
	Etyylibentseeni	0,9981	0,9994
	p-ksyleeni	0,9981	0,9992
	m-ksyleeni	0,9983	0,9993
	o-ksyleeni	0,9958	0,9989
2	Bentseeni	0,9971	0,9974
	Tolueeni	0,9987	0,9988
	Etyylibentseeni	0,9982	0,9984
	p- ja m-ksyleeni	0,9978	0,9989
	o-ksyleeni	0,9981	0,9991

LoQ määritettiin siten, että residuaalien tuli jakautua tasaisesti mittauspisteen laskennallisen arvon molemmin puolin, tulosten ollessa tietyn tarkkuusrajan sisäpuolella. Tarkkuusraja oli pääsääntöisesti ± 40 % laskennallisesta arvosta. Tarkkuusrajan määrittämisessä otettiin huomioon joidenkin analyyttien kohdalla ilmennyt matriisivaikutus, jonka johdosta tuloksiin aiheutui satunnaisvirhettä. LoD määritettiin kohtaan, jossa analyytti tuotti pääsääntöisesti positiivisen vasteen, mutta jossa residuaalit eivät jakautuneet tasaisesti laskennallisen arvon molemmin puolin, ja jossa mittaustulosten epätarkkuus ylitti sallitun rajan. Määritys- ja toteamisrajoihin vaikuttavat ensisijaisesti detektorin herkkyys sekä näytematriisin vaikutus.

Koska kvantitointiin käytetään ensisijaisesti poolitonta kolonnia, on LoD ja LoQ määritetty tälle kolonnille. Residuaalikuvaajat on esitetty liitteessä 8, ja menetelmälle määritetyt LoD ja LoQ on esitetty taulukossa 15 sekä BTEX-yhdisteiden summana että analyyttikohtaisina. BTEX-summa on määritetty siten, että se on analyyttikohtaisten määritys- tai tunnistusrajojen summa ppm:na. Poolittomalla kolonnilla p- ja m-ksyleenit eluoituvat samanaikaisesti, joten näiden analyyttien LoD ja LoQ on määritetty analyyttien summana. LoD:n ja LoQ:n määrittämiseen voidaan käyttää residuaalikuvaajien lisäksi nollanäytteiden keskihajontaa tai signaali-kohina -suhdetta. Tämän työn osalta näitä keinoja ei käytetty, koska nollanäytteiden vaste ei näy kromatogrammeissa, ja matriisivaikutuksen aiheuttaman absoluuttisen vasteen hajonnan takia signaali-kohina – suhteen muuntaminen suoraan pitoisuusyksiköiksi on ongelmallista.

Taulukko 15. Menetelmän LoD ja LoQ

Analyytti	LoD (ppm)	LoQ (ppm)
bentseeni	0,25	0,5
tolueeni	0,15	0,25
etylibentseeni	0,1	0,25
p- ja m-ksyleeni	0,175	0,25
o-ksyleeni	0,1	0,25
BTEX-summa	0,775	1,5

6.2.2 Tarkkuus

Menetelmän tarkkuutta tutkittiin näytematriisiin valmistetuilla saantonäytteillä sekä vertaamalla positiivisen näytteen liuosinjektio- sekä headspace –menetelmillä analysoituja analyyttipitoisuuksia. Tarkkuutta tutkittiin myös vertaamalla standardiliuosten analysoituja ja laskennallisia pitoisuuksia.

Saantokokeissa käytettiin kolmesta eri näytevedestä valmistettuja näytteitä, joihin oli lisätty eri vahvuisia standardiliuoksia. Saannot laskettiin kaavalla

$$R\% = \frac{(S-U)}{C} * 100, \text{ jossa} \quad (9)$$

R% = saantoprosentti

S = tunnetulla lisäyksellä tehdyn mittauksen tulos (mg/näyte)

U = mittaustulosten keskiarvo ilman lisättyä analyyttiä (mg/näyte)

C = lisäyksen laskennallinen arvo (mg/näyte).

Saannot olivat pääsääntöisesti välillä 80–100 %. Virhettä tuloksiin aiheutti matriisivaikutus, jonka johdosta saannot olivat joidenkin yksittäisten näytteiden sisältämien analyyttien kohdalla selvästi keskiarvoa matalampia tai korkeampia. Matriisivaikutus ilmenee saantoprosentin poikkeavan alhaisesta tai korkeasta keskiarvosta yhdistettynä suureen keskihajontaan. Matriisivaikutus huomioon ottaen saantokokeiden tulosta voidaan pitää hyvänä, vaikka bentseeni- ja tolueenipiikkejä ei saatu kaikista näytteistä esiin. Joidenkin näytteiden kohdalla esiintyvät poikkeuksellisen alhaiset saannot tiettyjen analyyttien kohdalla selittyvät näytematriisin epäpuhtauksilla.

Saantokokeiden tulokset on esitetty liitteessä 8, ja tulosten keskiarvot ja keskihajonnat taulukossa 16. Esimerkkikromatogrammi saantonäytteestä on esitetty liitteessä 10, jossa on havaittavissa tyypillinen esimerkki analyyttipiikin päälle osittain tulevasta epäpuhtauden aiheuttamasta piikistä.

Taulukko 16. Saantokokeiden tulokset

Näyte	Kolonne	Analyytti	Saanto		
			Keskiarvo (%)	Keskihajonta (%)	Suht. keski-hajonta (%)
Näyte 1	poolinen	Bentseeni	116,6	10,0	8,5
		Tolueeni	113,5	9	7,9
		Etyylibentseeni	94,6	7,3	7,7
		p-ksyleeni	91,8	4,4	4,8
		m-ksyleeni	93,8	4,7	5,0
		o-ksyleeni	95,0	12,8	13,5
	pooliton	Bentseeni	93,0	10,9	11,7
		Tolueeni	111,2	N/A	N/A
		Etyylibentseeni	92,3	4,3	4,6
		p- ja m-ksyleeni	89,0	7,4	8,4
		o-ksyleeni	72,2	4,1	5,7
Näyte 2	poolinen	Bentseeni	94,8	3,4	3,6
		Tolueeni	99,9	18,4	18,4
		Etyylibentseeni	95,7	10,2	10,6
		p-ksyleeni	101,8	18,9	18,6
		m-ksyleeni	90,5	6,6	7,3
		o-ksyleeni	59,7	24,1	40,4
	pooliton	Bentseeni	98,5	10,4	10,6
		Tolueeni	108,3	22,7	21,0
		Etyylibentseeni	86,9	26,5	30,5
		p- ja m-ksyleeni	73,6	4,8	6,6
		o-ksyleeni	89,4	15,2	17,0
Näyte 3	poolinen	Bentseeni	N/A	N/A	N/A
		Tolueeni	77,3	22,6	29,3
		Etyylibentseeni	98,8	9,8	9,9
		p-ksyleeni	80,5	11	13,6
		m-ksyleeni	79,2	9,0	11,4
		o-ksyleeni	97,8	16,3	16,6
	pooliton	Bentseeni	109,0	22,4	20,6
		Tolueeni	88,3	21,7	24,6
		Etyylibentseeni	159,4	129,1	81,0
		p- ja m-ksyleeni	68,1	14,4	21,1
		o-ksyleeni	80,1	15,4	19,2

Headspace-menetelmällä ja liuosinjektiomenetelmällä mitattuja pitoisuuksia vertailtiin kolmesta eri näytevedestä valmistetuilla näytteillä. HS-menetelmällä analysoidut pitoisuudet ovat n. 80 % liuosinjektiomenetelmällä analysoiduista pitoisuuksista. Tulosta voidaan toistettavuutensa takia pitää hyvänä saantokokeiden tuloksia vastaan

tarkasteltuna. Analyysimenetelmien tulosten vertailu rinnakkaisnäytteiden keskiarvona on esitetty taulukossa 17. Yksittäisten näytteiden analysoidut pitoisuudet on esitetty liitteessä 11.

Taulukko 17. HS- ja liuosinjektiomenetelmän analyysitulosten vertailu

Näyte	BTEX -pitoisuus (ppm)		
	HS –menetelmä, poolinen kolonni	HS -menetelmä, pooliton kolonni	Liuosinjektiomenetelmä
Näyte 1	8,4	7,7	10
Näyte 2	1,4	1,1	<10
Näyte 3	9,9	13,0	10 - 15

Menetelmän tarkkuus pitoisuuden funktiona arvioitiin residuaalien perusteella. Tarkkuus on laskettu prosentuaalisena erona yksittäisen näytteen laskennallisesta pitoisuudesta. Menetelmän tarkkuus pitoisuusalueiden mukaan on esitetty taulukossa 18. Menetelmän lineaarisella alueella esiintyvän epätarkkuuden arvellaan johtuvan matriisivaikutuksesta, joka saattaa ilmetä analyyttien ja sisäisten standardien adsorptiona näytevesien sisältämien partikkelien pintaan, sekä analyyttien ja sisäisten standardien jakautumiskertoimien eroina. Koska menetelmän lineaarinen alue on osin määritelty tarkkuuden kautta, on menetelmän tarkkuus riittävä.

Taulukko 18. Menetelmän tarkkuus pitoisuuden funktiona

Analyytin pitoisuus (mg/näyte)	Tarkkuus (%)
>0,005	< ±20
0,002 – 0,005	±20
0,001 – 0,002	±40
0,0005 – 0,001	±60
< 0,0005	> ±100

6.2.3 Toistettavuus

Menetelmän toistettavuutta tutkittiin määrittämällä analyyttien vasteiden keskihajonnat näytteistä, joiden oli liuosinjektiomenetelmällä todettu sisältävän analyytteja. Toistettavuutta tutkittiin myös vertailemalla eri päivinä ja eri kantaliuoksista tehtyjen kalibrointisuorien kulmakertoimien ja leikkauspisteiden keskihajontoja.

Analyyttien vasteiden keskihajontoja mitattiin kolmesta eri näytevedestä valmistetuista näytteistä. Mittaukset tehtiin neljänä eri päivänä. Näytteissä ei esiintynyt bentseeniä ja tolueenia, joten näiden analyyttien toistettavuutta ei mitattu näiden näytteiden kautta. Bentseenin ja tolueenin toistettavuus arvioitiin saantonäytteistä. Keskihajonnat ovat tyydyttävän alhaisella tasolla, ja keskimääräistä korkeammat hajonnat johtuvat joidenkin analyyttien kanssa samanaikaisesti eluoituvien kontaminanttien tai muiden satunnaisvirheiden vaikutuksesta. Liuosinjektiomenetelmään vertailun tulokset on esitetty liitteessä 11. Näytevesistä mitattujen pitoisuuksien suhteelliset keskihajonnat on esitetty taulukossa 19, ja saantokokeiden tulokset taulukossa 16.

Taulukko 19. Mitattujen pitoisuuksien suhteelliset keskihajonnat

Näyte	Kolonne	Analyytti	Suht. keskihajonta (%)
Näyte 1	poolinen	Etylibentseeni	4,5
		p-ksyleeni	0,1
		m-ksyleeni	1,5
		o-ksyleeni	0,5
		tot	1,3
	pooliton	Etylibentseeni	3,3
		p- ja m-ksyleeni	15,7
		o-ksyleeni	12,7
		tot	11,7
Näyte 2	poolinen	Etylibentseeni	6,1
		p-ksyleeni	10,3
		m-ksyleeni	5,2
		o-ksyleeni	14,2
		tot	7,8
	pooliton	Etylibentseeni	10,8
		p- ja m-ksyleeni	18,6
		o-ksyleeni	3,5
		tot	10,0
Näyte 3	poolinen	Etylibentseeni	7,5
		p-ksyleeni	11,0
		m-ksyleeni	2,8
		o-ksyleeni	5,2
		tot	4,2
	pooliton	Etylibentseeni	7,0
		p- ja m-ksyleeni	7,8
		o-ksyleeni	4,8
		tot	5,2

Standardisuoria tehtiin yhteensä 9, joista 2 samana päivänä. Standardisuoria varten valmistettiin yhteensä 4 sarjaa kantaliuoksia. Kulmakertoimien väliset keskihajonnat ovat hyväksyttävän alhaisia. Leikkauspisteiden keskihajonta on melko korkeaa, mutta koska leikkauspisteen arvot ovat pieniä, on hajonnalla vaikutusta lähinnä matalien pitoisuuksien kvantitoinnissa. Mittausalue, jolla leikkauspisteen arvon suuruus on merkittävällä tasolla, on määritysrajan alapuolella, joten leikkauspisteiden keskihajonnalla ei ole merkittävää vaikutusta menetelmän toistettavuuteen. Standardisuorien yhtälöt on esitetty liitteessä 9, ja kulmakertoimien ja leikkauspisteiden keskihajonnat on esitetty taulukossa 20.

Taulukko 20. Kulmakertoimien ja leikkauspisteiden keskihajonnat

Kolonne	Analyytti	Suht. keskihajonta (%)	
		Kulmakerroin	Leikkauspiste
poolinen	Bentseeni	8,2	58,4
	Tolueeni	10,2	66,5
	Etyylibentseeni	10,6	85,9
	p-ksyleeni	10,6	79,1
	m-ksyleeni	10,5	153,4
	o-ksyleeni	10,2	214,9
pooliton	Bentseeni	10,2	56,5
	Tolueeni	10,4	59,9
	Etyylibentseeni	10,9	97,9
	p- ja m-ksyleeni	9,7	149,8
	o-ksyleeni	9,5	159,9

7 Yhteenveto

Opinnäytetyön tarkoituksena oli kehittää ja validoida HS-GC-FID-tekniikkaan perustuva kvantitatiivinen analyysimenetelmä BTEX-yhdisteiden analysoimiseksi tehtaan jätevedestä. Kehitetty menetelmä tuottaa riittävän herkän ja toistettavan vasteen, ja yksittäistä näytettä kohden käytettävä valmistelu-aika on saatu pidettyä lyhyenä. Menetelmä kehitettiin Tikkurila Oyj:n analyttiselle laboratoriolle ja toimii pohjana menetelmän jatkokehitykselle, jonka tarkoitus on saada muut näytevesistä analysoitavat liuottimet saman menetelmän piiriin.

Menetelmän kehityksessä saatiin määritettyä olosuhteet ja toimenpiteet, joilla saadaan mahdollisimman herkkä ja toistettava vaste, näytteenkäsittelyajan pysyessä mahdollisimman lyhyenä. Matriisivaikutus saatiin minimoitua tasolle, jolla kvantitatiivinen määrittäminen on mahdollista. Menetelmää kehitettiin alun perin pitoisuusalueelle 0,4–100 ppm, mutta menetelmän kehityksen edetessä pitoisuusalue rajautui alueelle 0,4–50 ppm, koska liian laaja pitoisuusalue aiheutti ongelmia lineaarisuuden määrittämisessä. Menetelmän BTEX-summan määrittämisrajaksi määritettiin 1,5 ppm, joka on tavoiteltua määrittämisrajaa korkeampi, mutta menetelmän soveltuvuuden kannalta riittävä. Menetelmän todettiin validoinnissa olevan mitta-alueella toistettava, tarkka ja lineaarinen. Menetelmän kehitystä jatkettaessa on suositeltavaa tehdä korkeille pitoisuuksille erillinen kalibrointisuora, jos menetelmän mitta-alue halutaan määrittää korkeammalle kuin 50 ppm.

Koska tulosten perusteella menetelmän herkkyyttä vaikutti rajoittavan ensisijaisesti detektorin herkkyys, voi matalampaa määrittämisrajaa tarvittaessa olla aiheellista käyttää detektorina massaspektrometria. MS-tekniikka mahdollistaa myös deuterioitujen sisäisten standardien käytön, jolloin analyytin ja sen sisäisen standardin jakautumiskertoimet ovat käytännössä samat, jolloin puolestaan menetelmän tarkkuus kasvaa. Menetelmän herkkyyden parantamiseen on mahdollista kokeilla myös kylmäloukkua. P&T-tekniikka mahdollistaa matriisivaikutuksen minimoimisen ja tuottaa oletettavasti herkemmän vasteen, mutta kehitettävän menetelmän soveltuvuus edellyttää korkeampaa automatisoimisastetta, mikä P&T-menetelmällä on saavutettavissa. Matriisivaikutuksen eliminoimiseksi voi MS-tekniikkaan yhdistää TVT- tai FET-tekniikoita; tämän työn osalta ei näitä tekniikoita kokeiltu käytännössä, koska kehitetyn menetelmän määrittämis- ja toteutamisrajojen arvioitiin rajoittuvan FID-tekniikan herkkyyteen.

Menetelmä on tällaisenaan käyttökelpoinen tarkoitukseensa ja soveltuu jatkokehitykseen. Menetelmä kehitettiin ensisijaisesti näytteille, joissa on epäpuhtauksina maalin komponentteja, mutta menetelmän periaate ja pohjatiedot soveltuvat myös muille vesipohjaisille matriiseille. Opinnäytetyöprosessi tuotti tärkeää kokemusta menetelmän kehityksestä sekä HS-GC-FID-tekniikan teoriasta ja käytännön sovelluksista.

Lähteet

- 1 U.S Department of the Interior/U.S. Geological survey. BTEX. Verkkodokumentti.
<http://toxics.usgs.gov/definitions/btex.html>. Luettu 7.2.2016.
- 2 Scottish Environment Protection Agency. Benzene, toluene, ethylbenzene, xylenes (BTEX). Verkkodokumentti.
<http://apps.sepa.org.uk/sripa/Pages/SubstanceInformation.aspx?pid=999>. Luettu 7.2.2016.
- 3 International Programme on Chemical Safety. ISCS 0015 – Benzene. Verkkodokumentti. <http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics0015.htm>.
Luettu 1.3.2016.
- 4 International Programme on Chemical Safety. ISCS 0078 – Toluene. Verkkodokumentti. <http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics0078.htm>.
Luettu 1.3.2016.
- 5 International Programme on Chemical Safety. ISCS 0268 – Ethylbenzene. Verkkodokumentti. <http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics0268.htm>.
Luettu 1.3.2016.
- 6 International Programme on Chemical Safety. ISCS 0084 – o-xylene. Verkkodokumentti. <http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics0084.htm>.
Luettu 1.3.2016.
- 7 International Programme on Chemical Safety. ISCS 0085 – m-xylene. Verkkodokumentti. <http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics0085.htm>.
Luettu 1.3.2016.
- 8 International Programme on Chemical Safety. ISCS 0086 – p-xylene. Verkkodokumentti. <http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics0086.htm>.
Luettu 1.3.2016.
- 9 The State of Queensland (Department of Environment and Heritage Protection. BTEX Chemicals. Verkkodokumentti.

<https://www.ehp.qld.gov.au/management/non-mining/btex-chemicals.html>. Luettu 7.2.2016.

- 10 Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Interaction Profile for: Benzene, Toluene, Ethylbenzene, and Xylenes (BTEX). Verkkodokumentti. <http://www.atsdr.cdc.gov/interactionprofiles/IP-btex/ip05.pdf>. Luettu 7.12.2015.
- 11 Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Benzene. Verkkodokumentti. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp3.pdf>. Luettu 7.12.2015.
- 12 Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Draft Toxicological Profile for Toluene. Verkkodokumentti <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp56.pdf>. Luettu 7.12.2015.
- 13 Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Ethylbenzene. Verkkodokumentti. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp110.pdf>. Luettu 7.12.2015.
- 14 Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Registry. Toxicological Profile for Xylene. Verkkodokumentti. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp71.pdf>. Luettu 7.12.2015.
- 15 Tukes. Tuote-VOC. Verkkodokumentti. <http://www.tukes.fi/fi/Toimialat/Kemikaalibiosidit-ja-kasvinsuojeluaineet/Tuote-VOC>. Luettu 10.12.2015.
- 16 Tikkurila Oyj. Teollisuutta ja maaleja koskevat VOC-direktiivit ja asetukset. Verkkodokumentti. http://www.tikkurila.fi/teollinen_maalaus/ajankohtaista/teollisuutta_ja_maaleja_koskevat_voc-direktiivit_ja_asetukset.7735.news. Luettu 10.12.2015.
- 17 Kouvola Vesi. Yleisohje teollisuusjätevesien johtamisesta yleiseen viemäriverkostoon. Verkkodokumentti. http://www.kouvola.fi/material/attachments/5nm0phRsx/67DFOiYO0/Ohje_teollisuusjatevesien_johtamisesta_2012.pdf. Luettu 10.12.2015

- 18 Joensuun Vesi. Laatuvaatimukset asumajätevesistä poikkeaville jätevesille. Verkkodokumentti.
<http://www.joensuunvesi.fi/documents/1368623/1761394/Laatuvaatimukset+asumaj%C3%A4tevesist%C3%A4%20poikkeaville+j%C3%A4tevesille/e6461ebe-1d95-488f-aecb-b7bbb1a07d46>. Luettu 10.12.2015
- 19 Finlex. 331/2013, Valtioneuvoston asetus kaatopaikoista. Verkkodokumentti
<http://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2013/20130331>. Luettu 7.2.2016
- 20 Dr. Leusch, Frederic, Dr. Bartkow, Michael. 2010. A short primer on benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes (BTEX) in the environment and in hydraulic fracturing fluids. Verkkodokumentti. <https://www.ehp.qld.gov.au/management/coal-seam-gas/pdf/btex-report.pdf>. Griffith University Smart Water Research Centre. Luettu 7.2.2016
- 21 Kolb, Bruno, Ettre, Leslie S. 2006. Static Headspace-Gas Chromatography: Theory and Practice, 2nd Edition. John Wiley & Sons.
- 22 Tipler, Andrew. An Introduction to Headspace Sampling in Gas Chromatography. Verkkodokumentti.
https://www.perkinelmer.com/PDFs/downloads/GDE_Intro_to_Headspace.pdf. Waltham: PerkinElmer, Inc. Luettu 5.2.2016
- 23 Restek. A Technical Guide for Static Headspace Analysis Using GC. Verkkodokumentti. <http://www.restek.com/pdfs/59895B.pdf>. Luettu 5.2.2016
- 24 Meier, Ulrich. Determination of Monomers in Polymers by Multiple Headspace Extraction - GC/MS. Verkkodokumentti. http://www.perkinelmer.com/CMSResources/Images/44-74084APP_DeterminationMultiple.pdf. Luettu 2.2.2016
- 25 Jaarinen, Soili & Niiranen, Jukka. 2008. Laboratorion analyysitekniikka, 5. – 6. painos. Helsinki: Edita Publishing Oy.
- 26 Agilent Technologies Inc. Agilent 6890N Gas Chromatograph User Information. Verkkodokumentti. <http://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/public/G1530-90210.pdf>. Luettu 7.2.2016

- 27 Tikkurila Oyj. Sisätuotteiden kuivumisajat. Verkkodokumentti.
http://www.tikkurila.fi/ammattilaiset/palvelut/tyomaan_hallinta/sisamaalien_kuivuminen. Luettu 7.2.2016
- 28 CIEC Promoting Science at the University of York. Paints. Verkkodokumentti.
<http://www.essentialchemicalindustry.org/materials-and-applications/paints.html>.
Luettu 7.2.2016
- 29 Deltech Corporation. Alkyd Resin Formulations. Verkkodokumentti.
<http://www.deltechcorp.com/deltech02/resins10/alkyd.htm>. Luettu 7.2.2016
- 30 Bayer MaterialScience. The Chemistry of Polyurethane Coatings.
Verkkodokumentti.
<https://www.pharosproject.net/uploads/files/cml/1383145151.pdf>. Luettu 7.2.2016
- 31 Tikkurila Oyj. Pigmentit ja täyteaineet. Verkkodokumentti.
http://www.tikkurila.fi/ammattilaiset/ratkaisut/ymparisto/maalien_raaka-aineet/pigmentit_ja_tayteaineet. Luettu 7.2.2016
- 32 Tikkurila Oyj. Lisäaineet.
http://www.tikkurila.fi/ammattilaiset/ratkaisut/ymparisto/maalien_raaka-aineet/lisaaaineet. Luettu 7.2.2016
- 33 Agilent 7694 Headspace Sampler – Operating Manual. 2012. Agilent Technologies Inc.
- 34 Ehder, Tapio: Kemian metrologian opas. 2005. Helsinki: Mikes.

Tasapainotuslämpötilatestit

Tässä liitteessä on esitetty tasapainotuslämpötilatestien vasteet sekä testeissä käytettyjen standardien pitoisuudet. Mittaukset suoritettiin 04.09.2015. Tulokset on ilmoitettu absoluuttisina vasteina, ellei toisin ole mainittu.

Taulukko 1. Tasapainotuslämpötilatestien vasteet

		1. testi		2. testi	
	Näytetunnus	HS_STD6_2ml_3009 .8mgVesi_iaa06mg	HS_STD2_2ml_3018 .7mgVesi_iaa06mg	HS_STD6_2ml_2997 .9mgVesi_iaa06mg	HS_STD2_2ml_3004 .0mgVesi_iaa06mg
	m (mg)	3009,8	3018,7	2997,9	3004
FID 1	IAA	0	0	16,91743	14,24532
	benz	0	0	0,888595	9,3683
	tol	0	0,313618	0,243145	23,82751
	eb	0	0,356117	2,16612	20,6473
	p_xyl	0	0,340383	2,17655	20,5519
	m_xyl	0	0,95922	5,17954	51,0645
	o_xyl	0	0,381859	2,3063	22,32143
FID 2	IAA	0,108251	0	13,89429	11,67814
	benz	0	0,0602645	0,817691	8,18114
	tol	0	0,275602	2,05792	20,53047
	eb	0	0,397313	1,85796	17,99292
	p_m_xyl	0,181641	1,44245	6,41104	62,1895
	o_xyl	0,0580017	0,465183	1,98618	18,90946

Taulukko 2. Tasapainotuslämpötilatesteissä käytettyjen standardien pitoisuudet (mg/näyte)

Standardi	benz	tol	eb	p_xyl	m_xyl	o_xyl	p_m_xyl
L2	0,0566	0,1134	0,0827	0,0826	0,1963	0,0924	0,2789
L6	0,0057	0,0113	0,0083	0,0083	0,0196	0,0092	0,0279

Suolanlisäytestit

Tässä liitteessä on esitetty suolanlisäytestien vasteet sekä testeissä käytettyjen standardien pitoisuudet. Mittaukset suoritettiin 10. – 11.09.2015. Tulokset on ilmoitettu absoluuttisina vasteina, ellei toisin ole mainittu.

Taulukko 1. Suolanlisäytestien vasteet

	Näytetunnus	HS_STD6_1_1m ISTD_3998.0mg Vesi_NaCl_0mg _iaa02mg	HS_STD6_1ml_1 3994.7mgVesi_i aa02mg	HS_STD6_1ml_1 4000.9mgVesi_i aa02mg_NaCl_1 50.0mg	HS_STD6_2_1m ISTD_4000.9mg Vesi_NaCl_993. 2mg_iaa02mg	HS_STD6_3_1m ISTD_4008.7mg Vesi_NaCl_1460 .0mg_iaa02mg
	m (mg)	3998	3994,7	4000,9	4000,9	4008,7
FID 1	IAA	0,141993	0,106034	0,117773	0,142287	0,150397
	benz	0,155034	0,104935	0,115323	0	0
	tol	0,367849	0,422193	0,492035	0,419177	0,419092
	eb	0,437355	0,566634	0,62666	0,485812	0,484576
	p_xyl	0,433399	0,564235	0,642794	0,515728	0,517401
	m_xyl	1,10065	1,36644	1,58728	1,2366	1,2643
	o_xyl	0,499247	0,580992	0,786665	0,59352	0,575564
FID 2	IAA	0,060022	0,0919166	0,0894843	0,101284	0,10011
	benz	0,0775143	0,08916	0,103997	0,0780727	0,0745611
	tol	0,298386	0,362094	0,404205	0,34696	0,333323
	eb	0,351308	0,467991	0,57286	0,382598	0,409841
	p_m_xyl	1,36778	1,64903	1,96753	1,48032	1,49942
	o_xyl	0,490034	0,602884	0,693873	0,557584	0,532231

Taulukko 2. Suolanlisäysteissä käytetyn standardin pitoisuudet (mg/näyte)

Standardi	benz	tol	eb	p_xyl	m_xyl	o_xyl	p_m_xyl
L6	0,0028	0,0057	0,0041	0,0041	0,0098	0,0046	0,0139

Paineistusaikatestit

Tässä liitteessä on esitelty paineistusaikatestien tulokset. Testit suoritettiin 28.09.2015. Tulokset on ilmoitettu absoluuttisina vasteina, ellei toisin ole mainittu.

Taulukko 1. Paineistusaikatestien vasteet

1. testi, paineistusaika 0,2 min							
Detektori	Näyte-tunnus	13946_N1_40 02.5mg_iaa2 mg	13946_N3_40 05.8mg_iaa2 mg		ave	st.dev	rel.st.dev (%)
FID 1	eb	0,633009	1,03717		0,8351	0,2858	34,22
	p_xyl	0,665394	0,849705		0,7575	0,1303	17,20
	m_xyl	1,91948	2,46114		2,1903	0,3830	17,49
	o_xyl	1,67772	1,94591		1,8118	0,1896	10,47
FID2	eb	0,51435	0,589788		0,5521	0,0533	9,66
	p_m_xyl	2,23867	2,48766		2,3632	0,1761	7,45
	o_xyl	1,6823	1,71005		1,6962	0,0196	1,16
	Näyte-tunnus	14010_N1_39 91.2_iaa2mg	14010_N2_40 03.4_iaa2mg	14010_N3_40 04.4_iaa2mg	ave	st.dev	rel.st.dev (%)
FID 1	eb	0,209646	0,265033	0,254581	0,2431	0,0294	12,11
	p_xyl	0,296906	0,267808	0,264685	0,2765	0,0178	6,43
	m_xyl	0,589578	0,728115	0,65756	0,6584	0,0693	10,52
	o_xyl	0,384477	0,377761	0,367256	0,3765	0,0087	2,31
FID2	eb	0,190256	0,207927	0,218346	0,2055	0,0142	6,91
	p_m_xyl	0,711098	0,644053	0,658609	0,6713	0,0353	5,25
	o_xyl	0,347311	0,325367	0,369904	0,3475	0,0223	6,41
2. testi, paineistusaika 1 min							
	Näyte-tunnus	13946_N1_40 09.0mg_iaa2 mg	13946_N2_39 95.8mg_iaa2 mg	13946_N3_39 97.7mg_iaa2 mg	ave	st.dev	rel.st.dev (%)
FID 1	eb	1,48405	1,68195	1,62145	1,5958	0,1014	6,35
	p_xyl	1,97472	2,21331	2,66382	2,2840	0,3499	15,32
	m_xyl	4,90539	5,93829	5,32066	5,3881	0,5197	9,65
	o_xyl	4,26118	4,6756	4,52668	4,4878	0,2099	4,68
FID2	eb	1,25156	1,41815	1,34873	1,3395	0,0837	6,25
	p_m_xyl	5,40342	6,228	5,96642	5,8659	0,4214	7,18
	o_xyl	3,60393	4,01719	3,91624	3,8458	0,2155	5,60
	Näyte-tunnus	14010_N1_39 94.7_iaa2mg	14010_N2_40 07.9_iaa2mg	14010_N3_39 93.2_iaa2mg	ave	st.dev	rel.st.dev (%)
FID 1	eb	0,66843	0,638815	0,624711	0,6440	0,0223	3,46
	p_xyl	0,906333	0,892904	0,859136	0,8861	0,0243	2,74
	m_xyl	1,90051	1,7908	1,73214	1,8078	0,0855	4,73
	o_xyl	1,11199	1,05921	1,02203	1,0644	0,0452	4,25
FID2	eb	0,564799	0,513922	0,521008	0,5332	0,0276	5,17
	p_m_xyl	1,76503	1,79356	1,7871	1,7819	0,0150	0,84
	o_xyl	0,885242	0,832492	0,831206	0,8496	0,0308	3,63

Ravistintestit

Tässä liitteessä on esitetty ravistintestien tulokset. Testit suoritettiin 29.09.2015. Tulokset on ilmoitettu absoluuttisina vasteina, ellei toisin ole mainittu.

Taulukko 1. Ravistintestien vasteet

1. testi, ravistin pois päältä							
Detektori	Näytetunnus	13946_N1_ 4009.0mg_i aa2mg	13946_N2_ 3995.8mg_i aa2mg	13946_N3_ 3997.7mg_i aa2mg	ave	st.dev	rel.stdev (%)
FID 1	eb	1,48405	1,68195	1,62145	1,5958	0,1014	6,35
	p_xyl	1,97472	2,21331	2,66382	2,2840	0,3499	15,32
	m_xyl	4,90539	5,93829	5,32066	5,3881	0,5197	9,65
	o_xyl	4,26118	4,6756	4,52668	4,4878	0,2099	4,68
FID 2	eb	1,25156	1,41815	1,34873	1,3395	0,0837	6,25
	p_m_xyl	5,40342	6,228	5,96642	5,8659	0,4214	7,18
	o_xyl	3,60393	4,01719	3,91624	3,8458	0,2155	5,60
	Näytetunnus	14010_N1_ 3994.7_iaa2 mg	14010_N2_ 4007.9_iaa2 mg	14010_N3_ 3993.2_iaa2 mg	ave	st.dev	rel.stdev (%)
FID 1	eb	0,66843	0,638815	0,624711	0,6440	0,0223	3,46
	p_xyl	0,906333	0,892904	0,859136	0,8861	0,0243	2,74
	m_xyl	1,90051	1,7908	1,73214	1,8078	0,0855	4,73
	o_xyl	1,11199	1,05921	1,02203	1,0644	0,0452	4,25
FID 2	eb	0,564799	0,513922	0,521008	0,5332	0,0276	5,17
	p_m_xyl	1,76503	1,79356	1,7871	1,7819	0,0150	0,84
	o_xyl	0,885242	0,832492	0,831206	0,8496	0,0308	3,63
2. testi, ravistin päällä							
	Näytetunnus	13946_IAA_ N1_3993.9 mg_iaa2mg	13946_IAA_ N2_4002.5 mg_iaa2mg	13946_IAA_ N3_4007.4 mg_iaa2mg	ave	st.dev	rel.stdev (%)
FID 1	eb	3,51615	3,51048	3,45851	3,4950	0,0318	0,91
	p_xyl	3,94514	4,59189	7,40729	5,3148	1,8408	34,64
	m_xyl	10,5115	11,08764	10,91608	10,8384	0,2958	2,73
	o_xyl	8,22818	8,59639	8,41467	8,4131	0,1841	2,19
FID 2	eb	2,67949	2,86669	2,82492	2,7904	0,0983	3,52
	p_m_xyl	11,50118	12,58593	12,39398	12,1604	0,5789	4,76
	o_xyl	6,92415	7,33242	7,18795	7,1482	0,2070	2,90
	Näytetunnus	14010_IAA_ N1_3995.5 mg_iaa2mg	14010_IAA_ N2_4007.4 mg_iaa2mg	14010_IAA_ N3_3999.9 mg_iaa2mg	ave	st.dev	rel.stdev (%)
FID 1	eb	1,26249	1,02188	0,885786	1,0567	0,1908	18,05
	p_xyl	1,20059	1,37231	1,2018	1,2582	0,0988	7,85
	m_xyl	2,69538	2,86366	2,67712	2,7454	0,1028	3,75
	o_xyl	1,66593	1,69956	1,58193	1,6491	0,0606	3,67
FID 2	eb	0,814069	0,876213	0,775641	0,8220	0,0507	6,17
	p_m_xyl	2,94924	3,10685	2,85499	2,9704	0,1273	4,28
	o_xyl	1,31589	1,37644	1,28038	1,3242	0,0486	3,67

Näytemäärätestit

Tässä liitteessä on esitetty näytemäärään liittyvien testien vasteet. Testit suoritettiin 05. – 06.10.2015. Tulokset on ilmoitettu absoluuttisina vasteina, ellei toisin ole mainittu.

Taulukko 1. Näytemäärätestien vasteet

Näyte- määrä (g)	Detektori	Näyte- tunnus	13946_IAA_N1 _3993.9mg_iaa 2mg	13946_IAA_N2 _4002.5mg_iaa 2mg	13946_IAA_N3 _4007.4mg_iaa 2mg	ave	st.dev	rel.stdev (%)			
		Analyytti									
4	FID 1	eb	3,51615	3,51048	3,45851	3,4950	0,0318	0,91			
		p_xyl	3,94514	4,59189	7,40729	5,3148	1,8408	34,64			
		m_xyl	10,5115	11,08764	10,91608	10,8384	0,2958	2,73			
		o_xyl	8,22818	8,59639	8,41467	8,4131	0,1841	2,19			
	FID2	eb	2,67949	2,86669	2,82492	2,7904	0,0983	3,52			
		p_m_xyl	11,50118	12,58593	12,39398	12,1604	0,5789	4,76			
		o_xyl	6,92415	7,33242	7,18795	7,1482	0,2070	2,90			
6	FID 1	Näyte- tunnus	13946_cyclohe x_N1_6000.1m g_cyclohex05m g	13946_cyclohe x_N2_6001.3m g_cyclohex05m g	13946_cyclohe x_N3_5996.3m g_cyclohex05m g	ave	st.dev	rel.stdev (%)			
		eb	2,7866	2,40803	2,50407				2,5662	0,1968	7,67
		p_xyl	14,41931	4,81728	5,21349				8,1500	5,4330	66,66
		m_xyl	9,14136	7,46066	7,98034				8,1941	0,8605	10,50
		o_xyl	7,02517	5,93131	6,25447				6,4037	0,5620	8,78
	FID2	eb	2,35115	1,96803	2,08734	2,1355	0,1960	9,18			
		p_m_xyl	10,22893	8,44611	8,95917	9,2114	0,9178	9,96			
		o_xyl	6,18044	5,01376	5,33022	5,5081	0,6033	10,95			
8	FID 1	Näyte- tunnus	13946_8_N1_7 005.8mg_iaa10 mg_cyclohex_0 5mg	13946_8_N2_7 006.1mg_iaa10 mg_cyclohex_0 5mg	ave	st.dev	rel.stdev (%)				
		eb	2,04717	2,25933				2,1533	0,1500	6,97	
		p_xyl	5,21866	2,80133				4,0100	1,7093	42,63	
		m_xyl	6,55532	6,98903				6,7722	0,3067	4,53	
		o_xyl	5,20271	5,51094				5,3568	0,2180	4,07	
	FID2	eb	1,71126	1,81698	1,7641	0,0748	4,24				
		p_m_xyl	7,26223	7,76642	7,5143	0,3565	4,74				
		o_xyl	4,39448	4,65805	4,5263	0,1864	4,12				

Liite 5
2 (4)

Näyte- määrä (g)	Detektori	Näyte- tunnus	13946_10_N1_ 9003.3mg_iaa1 0mg_cyclohex_ 05mg	13946_10_N2_8 996.8mg_iaa10m g_cyclohex_05m g
		Analyytti		
10	FID 1	eb	1,17069	0,496055
		p_xyl	7,52738	5,6307
		m_xyl	3,81217	1,6673
		o_xyl	2,91493	1,25579
	FID2	eb	0,999206	0,438048
		p_m_xyl	4,11252	1,70894
		o_xyl	2,50425	1,12233
12	FID 1	Näyte- tunnus	13946_12_N1_ 11001.2mg_iaa 10mg_cyclohe x_05mg	13946_12_N2_1 0993.4mg_iaa10 mg_cyclohex_05 mg
		eb	0,493582	0,433837
		p_xyl	8,37108	7,50245
		m_xyl	1,62633	1,48524
		o_xyl	1,14479	1,07583
	FID2	eb	0,413551	0,381482
		p_m_xyl	1,64552	1,52738
		o_xyl	1,08949	1,00539
14	FID 1	Näyte- tunnus	13946_14_N1_ 13007.3mg_iaa 10mg_cyclohe x_05mg	
		eb	0	
		p_xyl	11,73202	
		m_xyl	0,369699	
		o_xyl	0,272567	
	FID2	eb	0	
		p_m_xyl	0,244367	
		o_xyl	0,403257	

		rel.stdev
ave	st.dev	(%)
0,8334	0,4770	57,24
6,5790	1,3412	20,39
2,7397	1,5167	55,36
2,0854	1,1732	56,26
0,7186	0,3968	55,22
2,9107	1,6996	58,39
1,8133	0,9772	53,89
		rel.stdev
ave	st.dev	(%)
0,4637	0,0422	9,11
7,9368	0,6142	7,74
1,5558	0,0998	6,41
1,1103	0,0488	4,39
0,3975	0,0227	5,70
1,5865	0,0835	5,27
1,0474	0,0595	5,68

Näyte- määrä (g)	Detektori	Näyte- tunnus	14010_IAA_N1 _3995.5mg_iaa 2mg	14010_IAA_N2 _4007.4mg_iaa 2mg	14010_IAA_N3 _3999.9mg_iaa 2mg	ave	st.dev	rel.stdev (%)
		Analyytti						
4	FID 1	eb	1,26249	1,02188	0,885786	1,0567	0,1908	18,05
		p_xyl	1,20059	1,37231	1,2018	1,2582	0,0988	7,85
		m_xyl	2,69538	2,86366	2,67712	2,7454	0,1028	3,75
		o_xyl	1,66593	1,69956	1,58193	1,6491	0,0606	3,67
	FID2	eb	0,814069	0,876213	0,775641	0,8220	0,0507	6,17
		p_m_xyl	2,94924	3,10685	2,85499	2,9704	0,1273	4,28
		o_xyl	1,31589	1,37644	1,28038	1,3242	0,0486	3,67
6	FID 1	Näyte- tunnus	14010_IAA_N1 _3995.5mg_iaa 2mg					
		Analyytti						
		eb	0,84971					
		p_xyl	1,1813					
		m_xyl	2,42982					
		o_xyl	1,53441					
	FID2	eb	0,773657					
		p_m_xyl	2,68955					
		o_xyl	1,13187					
8	FID 1	Näyte- tunnus	14010_8_N1_6 992.8mg_iaa10 mg_cyclohex_0 5mg	14010_8_N2_6 991.1mg_iaa10 mg_cyclohex_0 5mg				
		Analyytti				ave	st.dev	rel.stdev (%)
		eb	0,746465	0,710067		0,7283	0,0257	3,53
		p_xyl	1,02014	1,00097		1,0106	0,0136	1,34
		m_xyl	2,12252	2,02063		2,0716	0,0720	3,48
		o_xyl	1,23801	1,15329		1,1957	0,0599	5,01
	FID2	eb	0,647948	0,627263		0,6376	0,0146	2,29
		p_m_xyl	2,26832	2,08853		2,1784	0,1271	5,84
		o_xyl	0,990642	0,964578		0,9776	0,0184	1,89

Näyte- määrä (g)	Detektori	Näyte- tunnus	14010_10_N1_ 9002.9mg_iaa1 0mg_cyclohex_ 05mg	14010_10_N2_ 9002.9mg_iaa1 0mg_cyclohex_ 05mg	ave	st.dev	rel.stdev (%)
		Analyytti					
10	FID 1	eb	0,405819	0,431143	0,4185	0,0179	4,28
		p_xyl	0,723086	0,5183	0,6207	0,1448	23,33
		m_xyl	1,19733	1,21235	1,2048	0,0106	0,88
		o_xyl	0,639083	0,697402	0,6682	0,0412	6,17
	FID2	eb	0,384543	0,386433	0,3855	0,0013	0,35
		p_m_xyl	1,20152	1,46303	1,3323	0,1849	13,88
		o_xyl	0,530929	0,584453	0,5577	0,0378	6,79
12	FID 1	Näyte- tunnus	14010_12_N1_ 10995.1mg_iaa 10mg_cyclohex _05mg	14010_12_N2_ 10999.7mg_iaa 10mg_cyclohex _05mg	ave	st.dev	rel.stdev (%)
		Analyytti					
		eb	0,378281	0,144053			
		p_xyl	0,444806	0,1646			
		m_xyl	1,07503	0,713203			
		o_xyl	0,616421	0,218702			
	FID2	eb	0,312507	0,166212			
		p_m_xyl	0,997524	0,324081			
		o_xyl	0,445707	0,160998			
14	FID 1	Näyte- tunnus	14010_14_N1_ 12989.9mg_iaa 10mg_cyclohex _05mg		ave	st.dev	rel.stdev (%)
		Analyytti					
		eb	0,149309				
		p_xyl	0,175402				
		m_xyl	0,859711				
		o_xyl	0,243197				
	FID2	eb	0,152723				
		p_m_xyl	0,457542				
		o_xyl	0,200144				

Sisäinen standardi

Tässä liitteessä on esitetty sisäisten standardien vertailussa käytettyjen standardisuorien kulmakertoimet ja selityksasteet

Taulukko 1. Standardivertailun kulmakertoimet

Sisäinen standardi	Detektori	Standardiliuosarja	1	1	2	2	3
		Mittauspäivä	12.10.	15.10.	26.10.	27.10.	29.10.
Sykloheksaani	FID1	benz	1,0047038	1,0368569	1,0035632	0,9447964	0,8605531
		tol	2,0715234	1,9471646	1,7502805	1,7764259	1,571664
		eb	3,9639925	3,6152868	3,4401367	3,5823195	3,0638536
		p_xyl	4,1267527	3,7551434	3,6060951	3,8034645	3,2598521
		m_xyl	4,2865237	3,906345	3,7916119	3,9556244	3,3751977
		o_xyl	4,4980687	4,0767675	4,1501906	4,3125391	3,6651772
	FID2	benz	0,9173124	0,9007978	0,9679297	1,0103031	0,8401429
		tol	2,0032825	1,8213214	1,7351649	1,8284827	1,5242214
		eb	3,8054939	3,4779807	3,34027	3,5269657	2,9903455
		p_m_xyl	4,0932979	3,7032684	3,743622	3,945114	3,4180853
		o_xyl	4,3225472	3,960704	4,099526	4,2929626	3,7502066
		Standardiliuosarja	3	2	3	4	
		Mittauspäivä	02.11.	04.11._1	04.11._2	10.11.	
	FID1	benz	0,9001679	1,0976439	0,9164306	1,0684062	
		tol	1,6602286	1,9543012	1,5328349	1,8452451	
		eb	3,4584292	3,5418328	2,6749409	3,4793968	
		p_xyl	3,6400907	3,8973955	2,8126205	3,6412131	
		m_xyl	3,7888164	3,9955784	2,9193033	3,8148042	
		o_xyl	4,1963292	4,3435005	3,1479125	4,1458915	
	FID2	benz	0,911927	1,1403475	0,8825839	1,0796835	
		tol	1,6370719	1,9206698	1,4554246	1,8372132	
		eb	3,3678769	3,5016463	2,5504373	3,4473148	
		p_m_xyl	3,744273	3,8982352	2,8792142	3,841886	
		o_xyl	4,0900277	4,2862468	3,1121299	4,1641307	

Sisäinen standardi	Detektori	Standardiliuosarja	1	1	2	2	3
		Mittauspäivä	12.10.	15.10.	26.10.	27.10.	29.10.
IAA	FID1	benz	19,455754	21,071291	15,390492	13,980316	12,68537
		tol	39,758674	39,163215	27,374389	26,541585	23,535773
		eb	75,957586	72,123161	54,13643	53,688377	46,367129
		p_xyl	78,951529	74,965574	56,730488	56,997815	49,347794
		m_xyl	81,878568	77,671838	59,663258	59,366301	51,288178
		o_xyl	86,017791	81,386653	65,318324	64,638196	55,735982
	FID2	benz	18,990744	18,015955	16,101651	15,834451	13,392308
		tol	40,618962	36,426427	28,988834	28,736176	24,426174
		eb	76,675394	69,559613	55,803498	55,764836	47,913884
		p_m_xyl	82,426673	74,065368	62,512481	62,087458	54,733332
		o_xyl	87,032867	79,21408	68,434872	67,750413	60,056992
		Standardiliuosarja	3	2	3	4	
		Mittauspäivä	02.11.	04.11._1	04.11._2	10.11.	
	FID1	benz	14,547253	15,799156	14,640605	18,365011	
		tol	26,475097	28,705093	23,943683	31,906198	
		eb	55,003988	52,256627	41,550524	60,400232	
		p_xyl	57,906732	57,537163	43,671632	63,221889	
		m_xyl	60,117322	59,104882	45,264251	66,277028	
		o_xyl	66,73883	64,115987	48,902948	71,970303	
	FID2	benz	16,046727	17,912609	15,126163	19,049164	
		tol	28,779989	31,143145	24,461143	32,801077	
		eb	58,971789	56,754579	42,804012	61,547542	
		p_m_xyl	65,576495	63,202657	48,252118	68,721275	
		o_xyl	71,666102	69,465635	52,218375	74,442674	

Taulukko 2. Standardivertailun kulmakertoimien keskiarvot ja keskihajonnat

Sisäinen standardi	Detektori	Analyytti	average	stdev	rel. stdev (%)
Sykloheksaani	FID1	benz	0,9815	0,0806	8,21
		tol	1,7900	0,1825	10,19
		eb	3,4245	0,3644	10,64
		p_xyl	3,6158	0,3821	10,57
		m_xyl	3,7593	0,3956	10,52
		o_xyl	4,0596	0,4120	10,15
	FID2	benz	0,9612	0,0984	10,23
		tol	1,7514	0,1813	10,35
		eb	3,3343	0,3631	10,89
		p_m_xyl	3,6963	0,3590	9,71
		o_xyl	4,0087	0,3822	9,53
IAA	FID1	benz	16,2150	2,7900	17,21
		tol	29,7115	6,0570	20,39
		eb	56,8316	11,1624	19,64
		p_xyl	59,9256	11,2010	18,69
		m_xyl	62,2924	11,6052	18,63
		o_xyl	67,2028	11,5334	17,16
	FID2	benz	16,7189	1,9012	11,37
		tol	30,7091	5,2979	17,25
		eb	58,4217	10,2368	17,52
		p_m_xyl	64,6198	10,0159	15,50
		o_xyl	70,0313	10,1265	14,46

Taulukko 3. Standardivertailun selityssasteet (r2)

Detektori	Mittauspäivä	12.10.		15.10		26.10.	
	Standardi	cyclohex	IAA	cyclohex	IAA	cyclohex	IAA
FID 1	benz	0,9949	0,9875	0,9936	0,9912	0,9948	0,9730
	tol	0,9966	0,9928	0,9989	0,9879	0,9968	0,9806
	eb	0,9970	0,9939	0,9994	0,9941	0,9973	0,9826
	p_xyl	0,9968	0,9938	0,9997	0,9916	0,9963	0,9842
	m_xyl	0,9972	0,9942	0,9996	0,9938	0,9966	0,9845
	o_xyl	0,9954	0,9931	0,9996	0,9928	0,9764	0,9616
FID 2	benz	0,9957	0,9825	0,9955	0,9955	0,9923	0,9789
	tol	0,9988	0,9930	0,9996	0,9996	0,9978	0,9813
	eb	0,9974	0,9947	0,9993	0,9993	0,9968	0,9826
	p_m_xyl	0,9974	0,9939	0,9989	0,9989	0,9959	0,9829
	o_xyl	0,9973	0,9936	0,9991	0,9991	0,9957	0,9833
Detektori	Mittauspäivä	27.10.		29.10.		02.11.	
	Standardi	cyclohex	IAA	cyclohex	IAA	cyclohex	IAA
FID 1	benz	0,9980	0,9976	0,9990	0,9914	0,9997	0,9945
	tol	0,9993	0,9956	0,9937	0,9900	0,9993	0,9995
	eb	0,9996	0,9989	0,9998	0,9928	0,9995	0,9992
	p_xyl	0,9992	0,9981	0,9998	0,9932	0,9995	0,9990
	m_xyl	0,9993	0,9987	0,9997	0,9926	0,9997	0,9971
	o_xyl	0,9989	0,9988	0,9997	0,9958	0,9989	0,9992
FID 2	benz	0,9995	0,9973	0,9974	0,9982	0,9994	0,9962
	tol	0,9993	0,9997	0,9987	0,9988	0,9991	0,9995
	eb	0,9984	0,9985	0,9995	0,9997	0,9992	0,9992
	p_m_xyl	0,9996	0,9993	0,9993	0,9994	0,9995	0,9991
	o_xyl	0,9994	0,9994	0,9994	0,9995	0,9992	0,9995
Detektori	Mittauspäivä	04.11._1		04.11._2		10.11.	
	Standardi	cyclohex	IAA	cyclohex	IAA	cyclohex	IAA
FID 1	benz	0,9993	0,9867	0,9951	0,9998	0,9980	0,9964
	tol	0,9966	0,9962	0,9998	0,9965	0,9970	0,9951
	eb	0,9950	0,9992	0,9996	0,9954	0,9957	0,9940
	p_xyl	0,9968	0,9982	0,9992	0,9952	0,9957	0,9938
	m_xyl	0,9970	0,9987	0,9993	0,9955	0,9960	0,9939
	o_xyl	0,9976	0,9977	0,9998	0,9962	0,9956	0,9935
FID 2	benz	0,9976	0,9755	0,9973	0,9956	0,9988	0,9949
	tol	0,9976	0,9964	0,9990	0,9972	0,9987	0,9962
	eb	0,9968	0,9966	0,9992	0,9934	0,9975	0,9948
	p_m_xyl	0,9980	0,9961	0,9997	0,9956	0,9920	0,9817
	o_xyl	0,9972	0,9967	0,9997	0,9952	0,9956	0,9876

Standardisuorat ja esimerkki kalibrointikuvaajasta

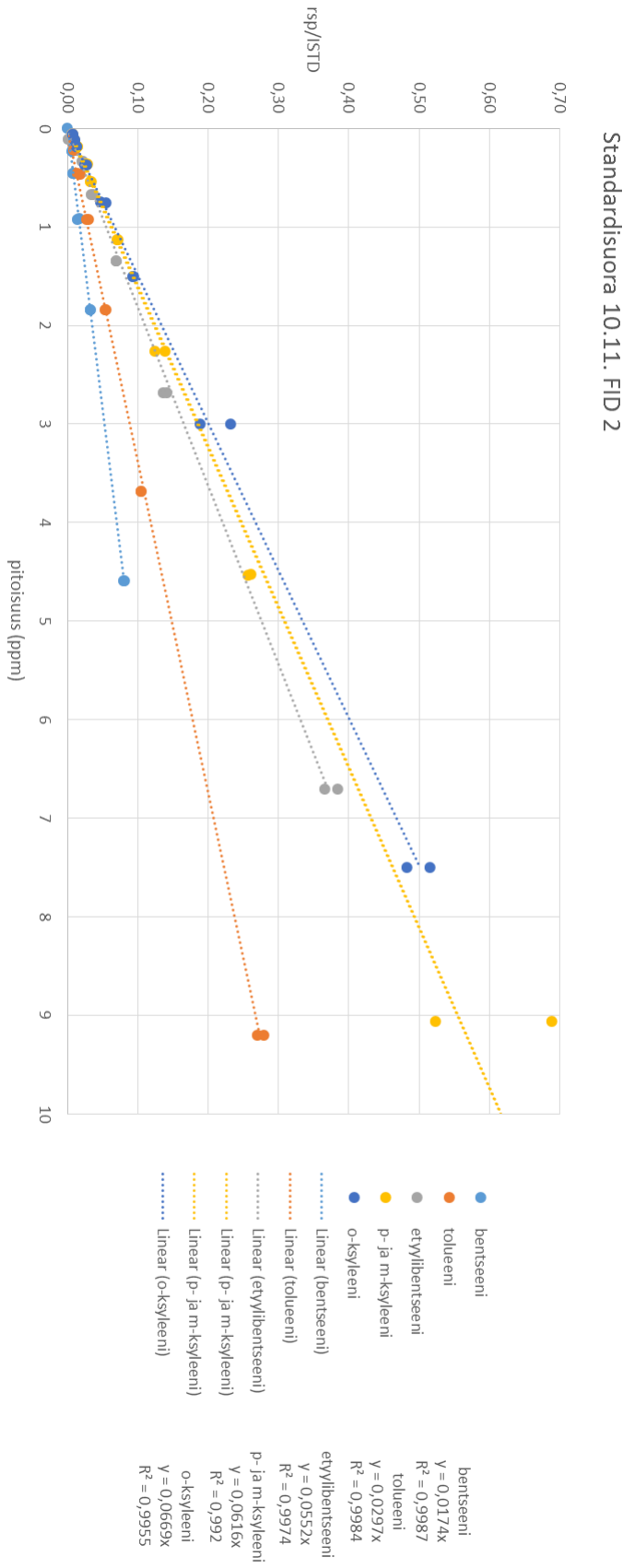
Tässä liitteessä on esitetty standardisuorien yhtälöt, esimerkki kalibrointikuvaajasta, sekä käytettyjen standardien pitoisuudet. Pitoisuudet on ilmoitettu milligrammoina näytettä kohden, ellei toisin ole mainittu.

Taulukko 1. Standardisuorien yhtälöt

Mittaus- päivä	Detek- tori	Analyytti	Kulmakerroin		Leikkauspiste
12.10.	FID1	benz	y=	1,0047	x + 0,2708
		tol	y=	2,0715	x + 0,3874
		eb	y=	3,9640	x + 0,0410
		p_xyl	y=	4,1268	x + 0,0976
		m_xyl	y=	4,2865	x + 0,0254
		o_xyl	y=	4,4981	x + 0,0834
	FID2	benz	y=	0,9173	x + 0,0997
		tol	y=	2,0033	x + 0,1511
		eb	y=	3,8055	x + 0,1702
		p_m_xyl	y=	4,0933	x + 0,0687
15.10.	FID1	benz	y=	1,037	x + -0,0339
		tol	y=	1,947	x + 0,0579
		eb	y=	3,615	x + 0,1751
		p_xyl	y=	3,755	x + 0,1465
		m_xyl	y=	3,906	x + 0,1647
		o_xyl	y=	4,077	x + 0,2035
	FID2	benz	y=	0,901	x + 0,0999
		tol	y=	1,821	x + 0,1224
		eb	y=	3,478	x + 0,1092
		p_m_xyl	y=	3,703	x + 0,7048
26.10.	FID1	benz	y=	1,004	x + 0,2046
		tol	y=	1,75	x + 0,4445
		eb	y=	3,44	x + 0,4045
		p_xyl	y=	3,606	x + 0,4645
		m_xyl	y=	3,792	x + 0,9355
		o_xyl	y=	4,15	x + -0,0605
	FID2	benz	y=	0,968	x + 0,1615
		tol	y=	1,735	x + 0,3229
		eb	y=	3,34	x + 0,4763
		p_m_xyl	y=	3,744	x + 1,4121
		o_xyl	y=	4,1	x + 0,5069

27.10.	FID1	benz	y= 0,945	x + 0,3063
		tol	y= 1,776	x + 0,2683
		eb	y= 3,582	x + 0,2109
		p_xyl	y= 3,803	x + 0,1571
		m_xyl	y= 3,956	x + 0,3594
		o_xyl	y= 4,313	x + 0,0260
	FID2	benz	y= 1,01	x + 0,0870
		tol	y= 1,828	x + 0,1656
		eb	y= 3,527	x + 0,2611
		p_m_xyl	y= 3,945	x + 0,3827
		o_xyl	y= 4,293	x + 0,1882
29.10.	FID1	benz	y= 0,861	x + 0,1872
		tol	y= 1,572	x + 0,3008
		eb	y= 3,064	x + 0,1611
		p_xyl	y= 3,26	x + 0,1568
		m_xyl	y= 3,375	x + 0,2392
		o_xyl	y= 3,665	x + 0,1288
	FID2	benz	y= 0,84	x + 0,0551
		tol	y= 1,524	x + 0,1605
		eb	y= 2,99	x + 0,1772
		p_m_xyl	y= 3,418	x + 0,1188
		o_xyl	y= 3,75	x + 0,0245
02.11.	FID1	benz	y= 0,9	x + 0,0783
		tol	y= 1,66	x + 0,0868
		eb	y= 3,458	x + -0,0363
		p_xyl	y= 3,64	x + 0,0087
		m_xyl	y= 3,789	x + -0,2223
		o_xyl	y= 4,196	x + -0,1231
	FID2	benz	y= 0,912	x + 0,0276
		tol	y= 1,637	x + -0,0154
		eb	y= 3,368	x + -0,0440
		p_m_xyl	y= 3,744	x + -0,3792
		o_xyl	y= 4,09	x + -0,0121
04.11._1	FID1	benz	y= 1,098	x + 0,3080
		tol	y= 1,954	x + 0,2278
		eb	y= 3,542	x + 0,1443
		p_xyl	y= 3,897	x + 0,1591
		m_xyl	y= 3,996	x + 0,1079
		o_xyl	y= 4,344	x + 0,0411
	FID2	benz	y= 1,14	x + 0,0619
		tol	y= 1,921	x + 0,1186
		eb	y= 3,502	x + 0,0651
		p_m_xyl	y= 3,898	x + 0,1595
		o_xyl	y= 4,286	x + -0,0902

04.11._2	FID1	benz	y= 0,916	x + 0,2227
		tol	y= 1,533	x + 0,1610
		eb	y= 2,675	x + 0,2106
		p_xyl	y= 2,813	x + 0,2928
		m_xyl	y= 2,919	x + 0,4380
	FID2	o_xyl	y= 3,148	x + 0,1973
		benz	y= 0,883	x + 0,1648
		tol	y= 1,455	x + 0,2112
		eb	y= 2,55	x + 0,1765
		p_m_xyl	y= 2,879	x + 0,3627
10.11.	FID1	o_xyl	y= 3,112	x + 0,2331
		benz	y= 1,068	x + 0,1650
		tol	y= 1,845	x + 0,0340
		eb	y= 3,479	x + 0,0364
		p_xyl	y= 3,641	x + 0,0574
	FID2	m_xyl	y= 3,815	x + -0,0673
		o_xyl	y= 4,146	x + -0,0256
		benz	y= 1,08	x + 0,0350
		tol	y= 1,837	x + 0,1120
		eb	y= 3,447	x + 0,0110
FID2	p_m_xyl	y= 3,842	x + 0,1638	
	o_xyl	y= 4,164	x + 0,0868	



Kuva 1. Esimerkki kalibrintokuvaajasta

Taulukko 2. Standardien pitoisuudet

Mittaus- päivä	Standardi	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	
12.10.	benz	0,01853	0,00741	0,00371	0,00185	0,00037	0,00022	0,00015	
	tol	0,03716	0,01486	0,00743	0,00372	0,00074	0,00045	0,00030	
	eb	0,02710	0,01084	0,00542	0,00271	0,00054	0,00033	0,00022	
	p_xyl	0,02708	0,01083	0,00542	0,00271	0,00054	0,00033	0,00022	
	m_xyl	0,06433	0,02573	0,01287	0,00643	0,00129	0,00077	0,00051	
	o_xyl	0,03030	0,01212	0,00606	0,00303	0,00061	0,00036	0,00024	
	tot (mg/näyte)	0,20	0,08	0,04	0,02	0,00	0,00	0,00	
	tot (ppm)	51,13	20,45	10,23	5,11	1,02	0,61	0,41	
Mittaus- päivä	Standardi	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	
15.10.	benz	0,01853	0,00741	0,00371	0,00185	0,00037	0,00022	0,00015	
	tol	0,03716	0,01486	0,00743	0,00372	0,00074	0,00045	0,00030	
	eb	0,02710	0,01084	0,00542	0,00271	0,00054	0,00033	0,00022	
	p_xyl	0,02708	0,01083	0,00542	0,00271	0,00054	0,00033	0,00022	
	m_xyl	0,06433	0,02573	0,01287	0,00643	0,00129	0,00077	0,00051	
	o_xyl	0,03030	0,01212	0,00606	0,00303	0,00061	0,00036	0,00024	
	tot (mg/näyte)	0,20	0,08	0,04	0,02	0,00	0,00	0,00	
	tot (ppm)	51,13	20,45	10,23	5,11	1,02	0,61	0,41	
Mittaus- päivä	Standardi	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8
26.10.	benz	0,01813	0,00725	0,00363	0,00181	0,00091	0,00044	0,00029	0,00015
	tol	0,03634	0,01454	0,00727	0,00363	0,00182	0,00087	0,00058	0,00029
	eb	0,02650	0,01060	0,00530	0,00265	0,00133	0,00064	0,00042	0,00021
	p_xyl	0,02649	0,01060	0,00530	0,00265	0,00132	0,00064	0,00042	0,00021
	m_xyl	0,06291	0,02517	0,01258	0,00629	0,00315	0,00151	0,00101	0,00050
	o_xyl	0,02963	0,01185	0,00593	0,00296	0,00148	0,00071	0,00047	0,00024
	tot (mg/näyte)	0,20	0,08	0,04	0,02	0,01	0,00	0,00	0,00
	tot (ppm)	50,00	20,00	10,00	5,00	2,50	1,20	0,80	0,40
Mittaus- päivä	Standardi	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8
27.10.	benz	0,01813	0,00725	0,00363	0,00181	0,00091	0,00044	0,00029	0,00015
	tol	0,03634	0,01454	0,00727	0,00363	0,00182	0,00087	0,00058	0,00029
	eb	0,02650	0,01060	0,00530	0,00265	0,00133	0,00064	0,00042	0,00021
	p_xyl	0,02649	0,01060	0,00530	0,00265	0,00132	0,00064	0,00042	0,00021
	m_xyl	0,06291	0,02517	0,01258	0,00629	0,00315	0,00151	0,00101	0,00050
	o_xyl	0,02963	0,01185	0,00593	0,00296	0,00148	0,00071	0,00047	0,00024
	tot (mg/näyte)	0,20	0,08	0,04	0,02	0,01	0,00	0,00	0,00
	tot (ppm)	50,00	20,00	10,00	5,00	2,50	1,20	0,80	0,40

Mittaus- päivä	Standardi	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	
29.10.	benz	0,01867	0,00747	0,00373	0,00187	0,00093	0,00045	0,00030	
	tol	0,03743	0,01497	0,00749	0,00374	0,00187	0,00090	0,00060	
	eb	0,02730	0,01092	0,00546	0,00273	0,00136	0,00066	0,00044	
	p_xyl	0,02728	0,01091	0,00546	0,00273	0,00136	0,00065	0,00044	
	m_xyl	0,06480	0,02592	0,01296	0,00648	0,00324	0,00156	0,00104	
	o_xyl	0,03052	0,01221	0,00610	0,00305	0,00153	0,00073	0,00049	
	tot (mg/näyte)	0,21	0,08	0,04	0,02	0,01	0,00	0,00	
	tot (ppm)	51,50	20,60	10,30	5,15	2,58	1,24	0,82	
Mittaus- päivä	Standardi	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8
02.11.	benz	0,01867	0,00747	0,00373	0,00187	0,00093	0,00045	0,00030	0,00015
	tol	0,03743	0,01497	0,00749	0,00374	0,00187	0,00090	0,00060	0,00030
	eb	0,02730	0,01092	0,00546	0,00273	0,00136	0,00066	0,00044	0,00022
	p_xyl	0,02728	0,01091	0,00546	0,00273	0,00136	0,00065	0,00044	0,00022
	m_xyl	0,06480	0,02592	0,01296	0,00648	0,00324	0,00156	0,00104	0,00052
	o_xyl	0,03052	0,01221	0,00610	0,00305	0,00153	0,00073	0,00049	0,00024
	tot (mg/näyte)	0,21	0,08	0,04	0,02	0,01	0,00	0,00	0,00
	tot (ppm)	51,50	20,60	10,30	5,15	2,58	1,24	0,82	0,41
Mittaus- päivä	Standardi	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8
04.11._1	benz	0,01813	0,00725	0,00363	0,00181	0,00091	0,00044	0,00029	0,00015
	tol	0,03634	0,01454	0,00727	0,00363	0,00182	0,00087	0,00058	0,00029
	eb	0,02650	0,01060	0,00530	0,00265	0,00133	0,00064	0,00042	0,00021
	p_xyl	0,02649	0,01060	0,00530	0,00265	0,00132	0,00064	0,00042	0,00021
	m_xyl	0,06291	0,02517	0,01258	0,00629	0,00315	0,00151	0,00101	0,00050
	o_xyl	0,02963	0,01185	0,00593	0,00296	0,00148	0,00071	0,00047	0,00024
	tot (mg/näyte)	0,20	0,08	0,04	0,02	0,01	0,00	0,00	0,00
	tot (ppm)	50,00	20,00	10,00	5,00	2,50	1,20	0,80	0,40
Mittaus- päivä	Standardi	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8
04.11._2	benz	0,01867	0,00747	0,00373	0,00187	0,00093	0,00045	0,00030	0,00015
	tol	0,03743	0,01497	0,00749	0,00374	0,00187	0,00090	0,00060	0,00030
	eb	0,02730	0,01092	0,00546	0,00273	0,00136	0,00066	0,00044	0,00022
	p_xyl	0,02728	0,01091	0,00546	0,00273	0,00136	0,00065	0,00044	0,00022
	m_xyl	0,06480	0,02592	0,01296	0,00648	0,00324	0,00156	0,00104	0,00052
	o_xyl	0,03052	0,01221	0,00610	0,00305	0,00153	0,00073	0,00049	0,00024
	tot (mg/näyte)	0,21	0,08	0,04	0,02	0,01	0,00	0,00	0,00
	tot (ppm)	51,50	20,60	10,30	5,15	2,58	1,24	0,82	0,41

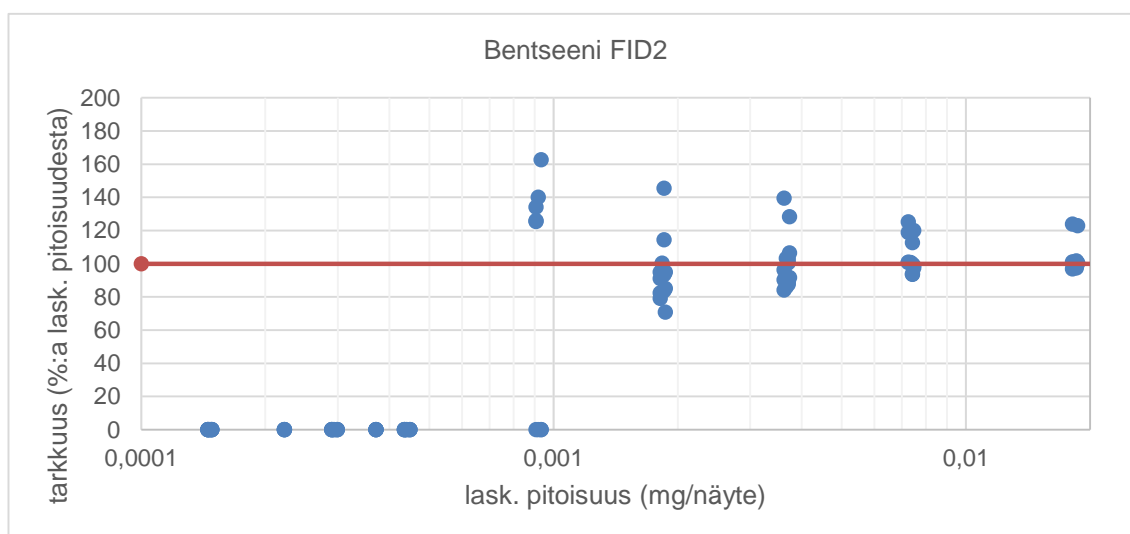
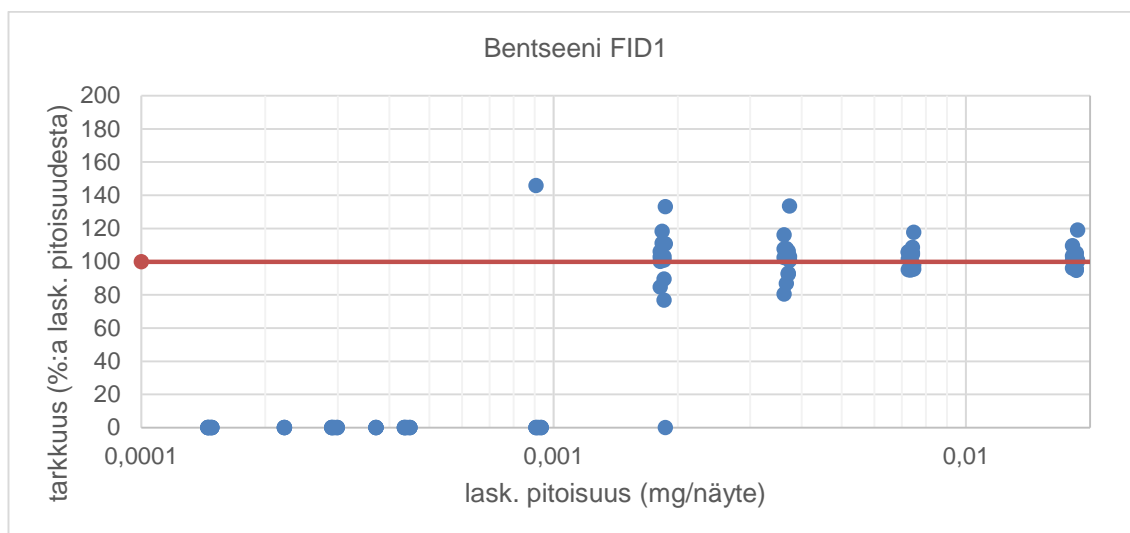
Mittaus-
päivä

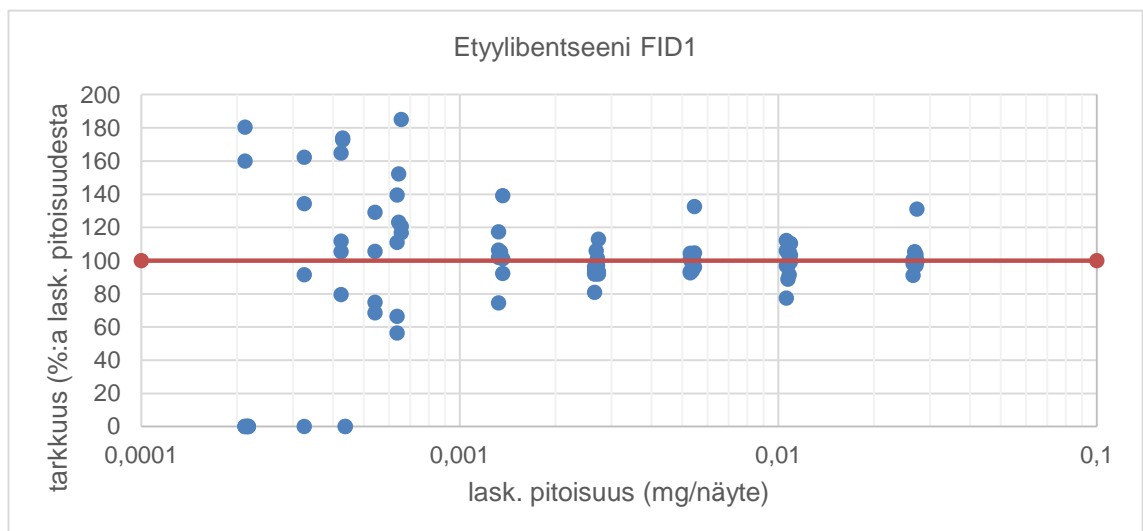
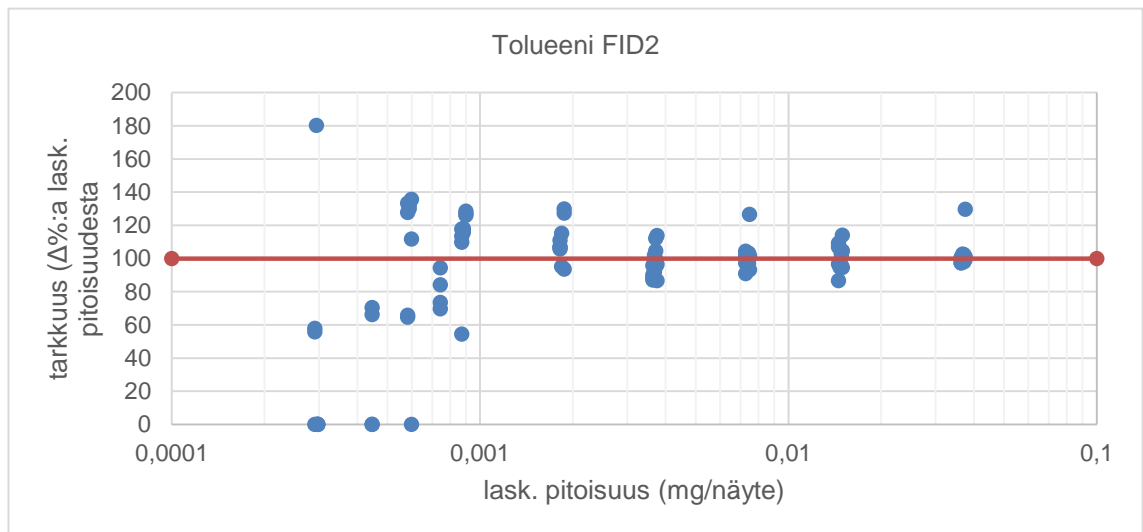
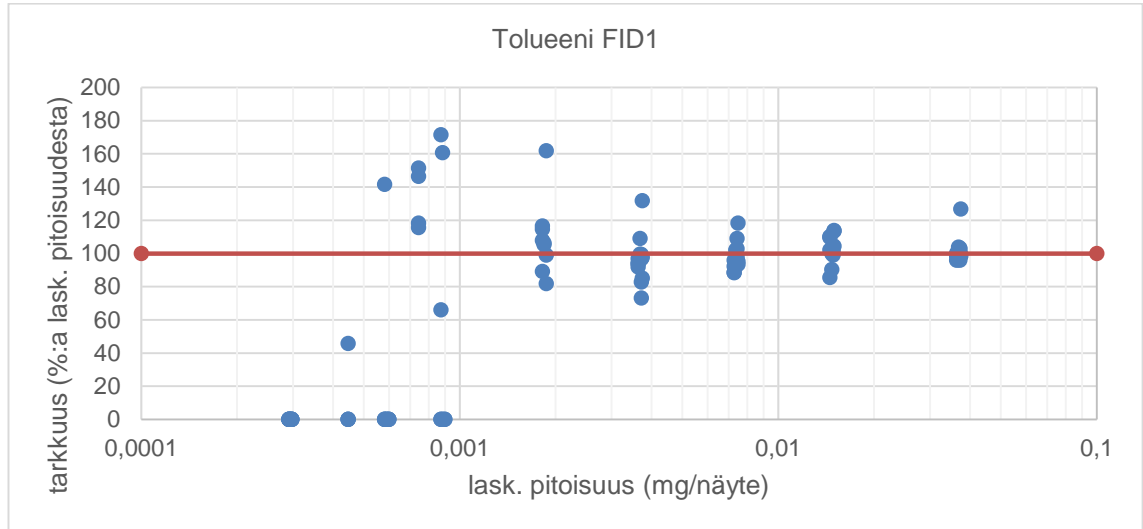
10.11.

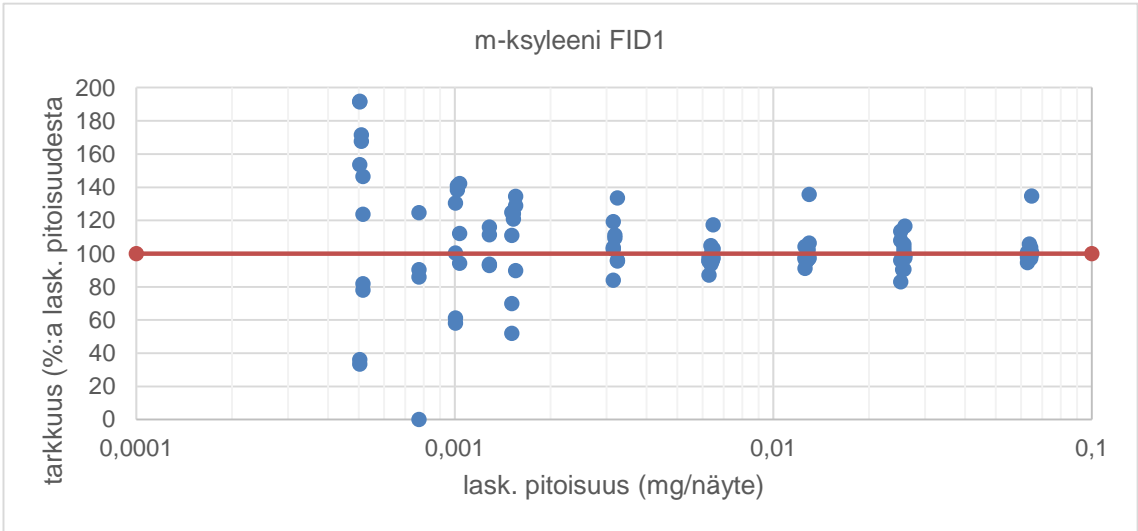
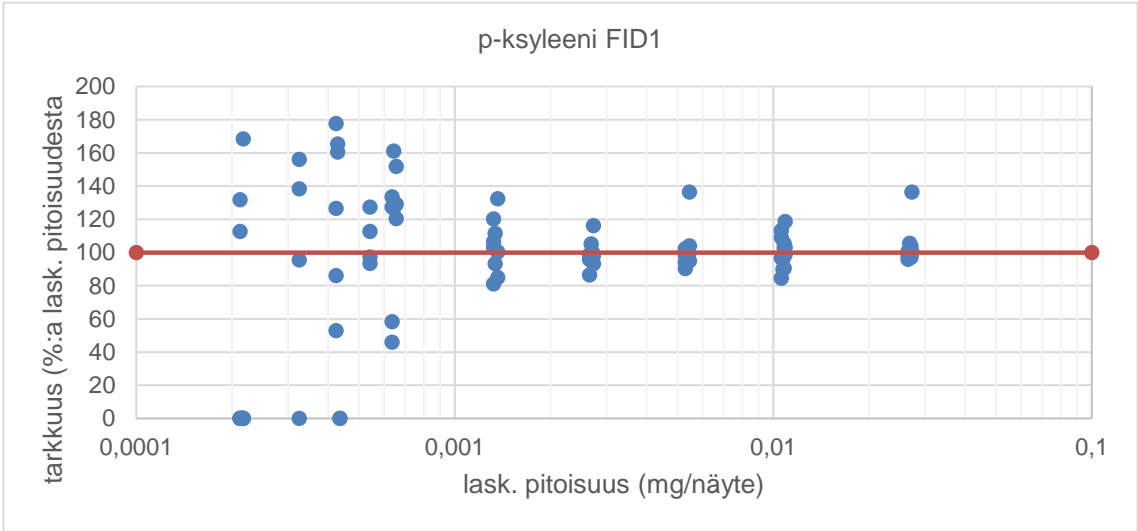
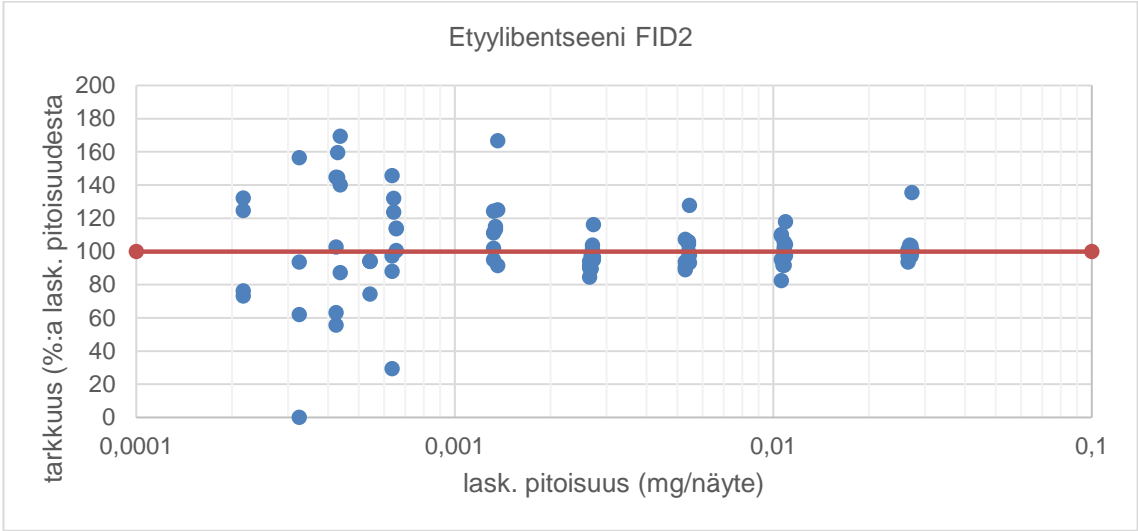
Standardi	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8
benz	0,01835	0,00734	0,00367	0,00184	0,00092	0,00044	0,00029	0,00015
tol	0,03680	0,01472	0,00736	0,00368	0,00184	0,00088	0,00059	0,00029
eb	0,02683	0,01073	0,00537	0,00268	0,00134	0,00064	0,00043	0,00021
p_xyl	0,02682	0,01073	0,00536	0,00268	0,00134	0,00064	0,00043	0,00021
m_xyl	0,06370	0,02548	0,01274	0,00637	0,00318	0,00153	0,00102	0,00051
o_xyl	0,03000	0,01200	0,00600	0,00300	0,00150	0,00072	0,00048	0,00024
tot (mg/näyte)	0,20	0,08	0,04	0,02	0,01	0,00	0,00	0,00
tot (ppm)	50,63	20,25	10,13	5,06	2,53	1,22	0,81	0,41

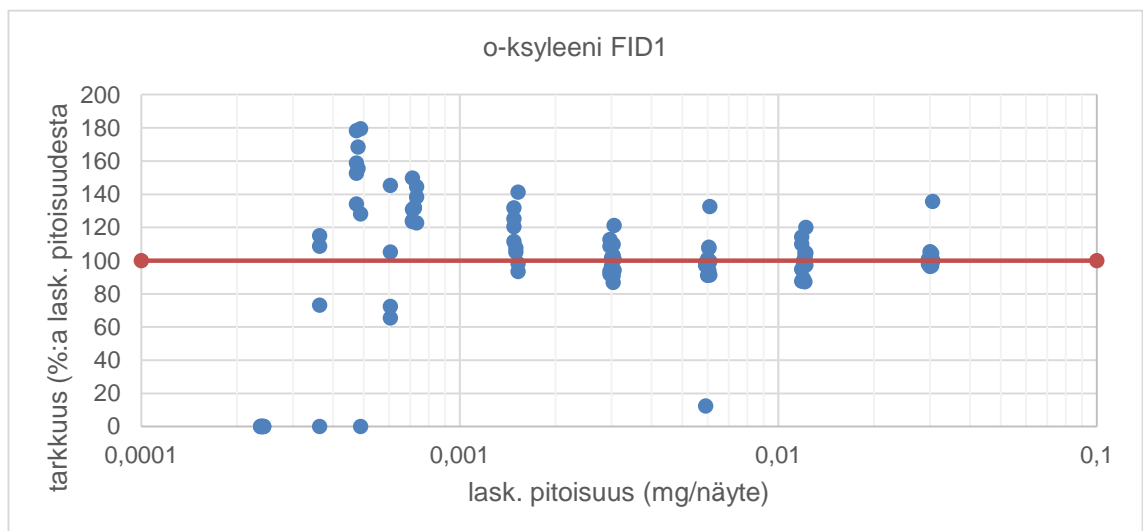
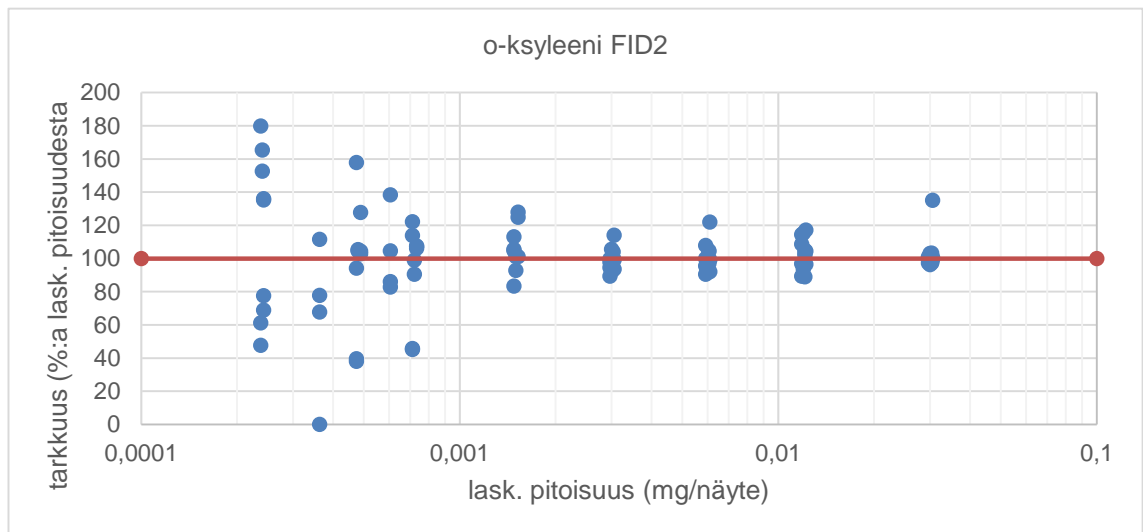
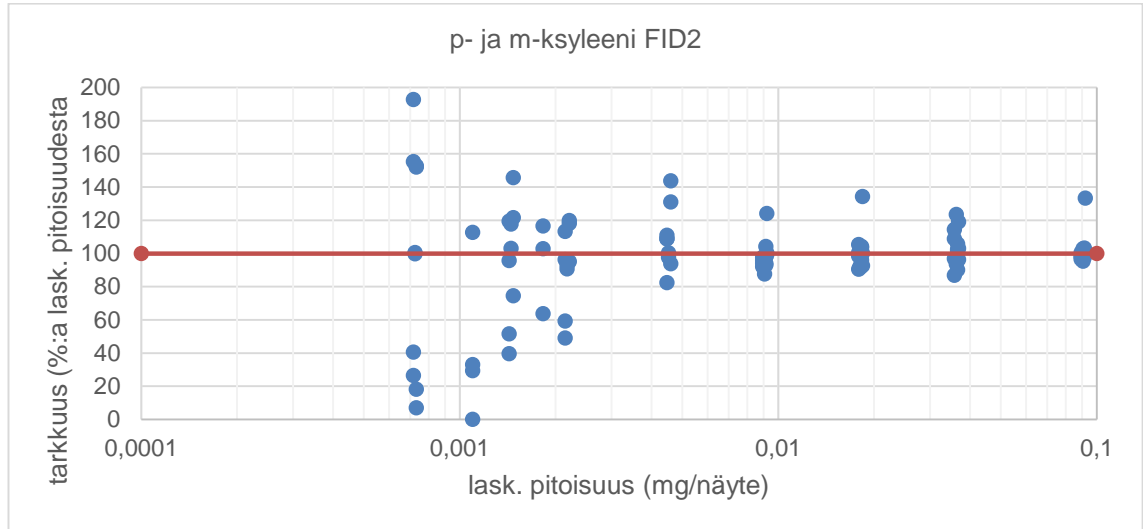
Residuaalikuvaajat

Tässä liitteessä on esitetty mitattujen pitoisuuksien tarkkuus suhteessa laskennallisiin pitoisuuksiin residuaalikuvaajina.









Saantokokeiden tulokset

Tässä liitteessä on esitetty saantokokeiden tulokset.

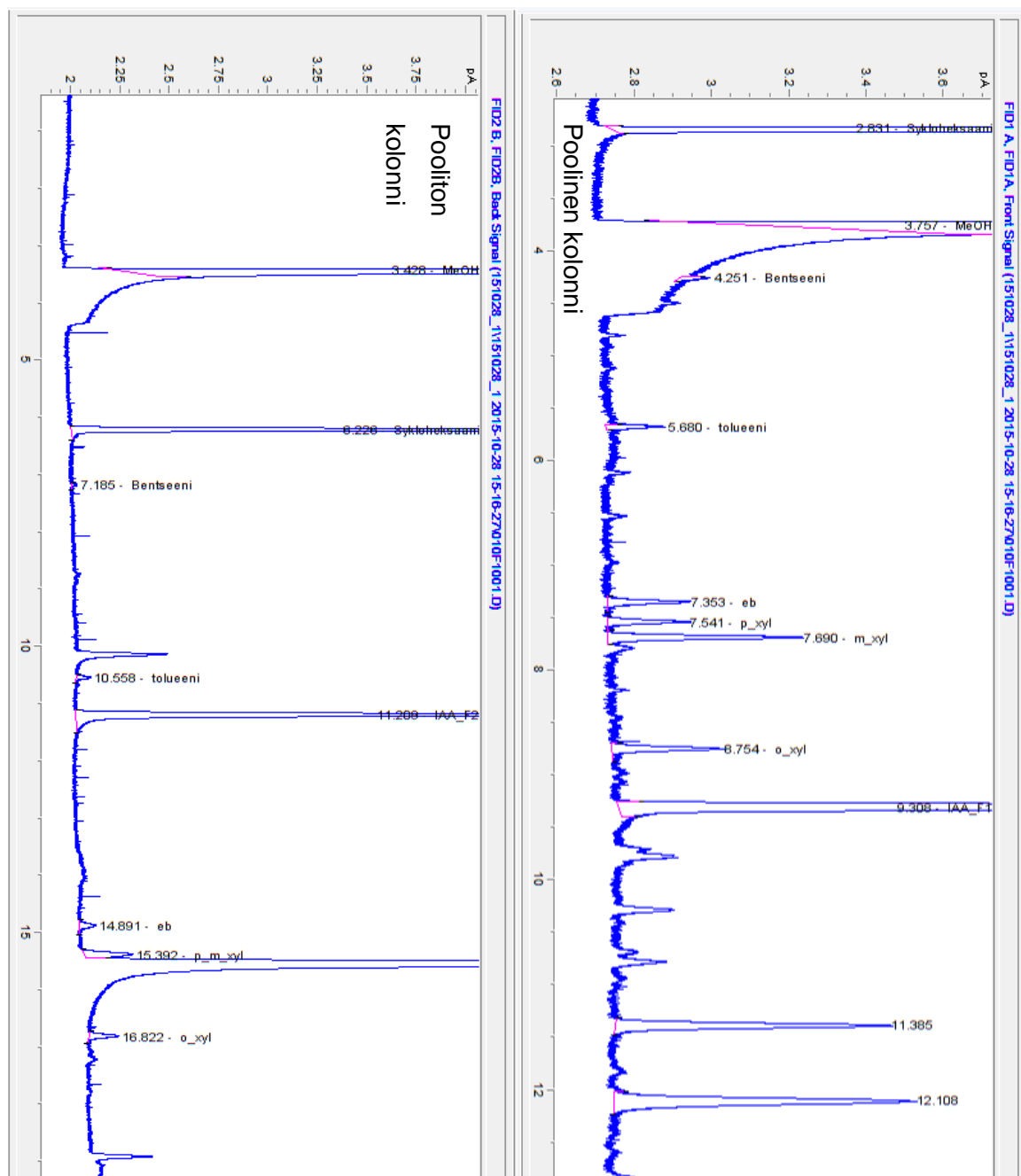
Taulukko 1. Saantoprosentit

Näyte	Detek-tori	Mittaus-päivä	12.10.					
		Näyte-tunnus	14031_S_N1_4005.8mg_spiked_L3_0.5l_cyclo-hex0.25mg_iaa5mg	14031_S_N2_3997.6mg_spiked_L3_0.5l_cyclo-hex0.25mg_iaa5mg				
1	FID 1	benz	109,56	123,63				
		tol	107,15	119,83				
		eb	99,88	89,61				
		p_xyl	94,91	88,70				
		m_xyl	97,18	90,50				
		o_xyl	104,08	85,94				
	FID 2	benz	100,72	85,30				
		tol		111,16				
		eb	89,23	95,28				
		p_m_xyl	94,31	83,78				
		o_xyl	69,27	75,04				
	Mittaus-päivä	21.10.		28.10.				
Näyte	Detek-tori	Näyte-tunnus	14063_S_1_4004.5mg_L4_0.5ml_cyclo-hex0.25mg_iaa5mg	14063_S_2_3993.9mg_L4_0.5ml_cyclo-hex0.25mg_iaa5mg	14063_S_L4_1_3991.1mg_g_cyclo-hex0.25mg_iaa5mg	14063_S_L4_2_3991.3mg_g_cyclo-hex0.25mg_iaa5mg	14063_S_L6_1_3996.4mg_g_cyclo-hex0.25mg_iaa5mg	14063_S_L6_2_4002.8mg_g_cyclo-hex0.25mg_iaa5mg
2	FID 1	benz	91,84	95,56	99,26	92,35		
		tol	93,81	79,14	89,03	87,80	124,18	119,34
		eb	89,88	92,45	82,74	94,22	95,88	113,25
		p_xyl	83,08	91,91	89,86	93,65	136,00	97,43
		m_xyl	88,03	87,66	84,68	87,33	103,06	89,75
		o_xyl	86,96	88,33	63,38	71,55	24,47	50,83
	FID 2	benz	80,15	91,93	99,80	103,72		
		tol	69,91	88,35	103,70	98,13	136,37	114,91
		eb	86,47	89,73	134,81	83,63	58,00	68,13
		p_m_xyl	79,80	77,39	72,55	69,08	79,40	69,69
o_xyl		80,29	89,28	68,74	86,55	87,66	114,95	

Näyte	Detektori	Mittaus-päivä	28.10.			2.11.		
		Näyte-tunnus	14072_S_L4_1_3996.5m g_cyclo-hex0.25mg_i aa5mg	14072_S_L4_2_3994.3m g_cyclo-hex0.25mg_i aa5mg	14072_S_L6_1_4001.4m g_cyclo-hex0.25mg_i aa5mg	14072_S_L6_2_3991.4m g_cyclo-hex0.25mg_i aa5mg	14072_S_L5_1_3995.6m g_cyclo-hex0.25mg_i aa5mg	14072_S_L5_2_3994.4m g_cyclo-hex0.25mg_i aa5mg
3	FID 1	benz						
		tol	78,30	99,87				54,68
		eb	89,50	96,48	116,12	89,46	96,61	95,21
		p_xyl	78,71	85,09	81,61	97,68	72,27	65,91
		m_xyl	77,70	83,14	79,37	93,78	70,30	69,42
		o_xyl	71,66	93,22	97,16	111,40	109,72	77,69
	FID 2	benz	140,67	108,95				
		tol	107,28	91,72	123,88	84,79	79,26	62,00
		eb		136,79	127,96	87,45		60,86
		p_m_xyl	61,64	74,03	45,29	88,94	66,57	65,84
		o_xyl	78,90	81,59	108,01	61,90	76,86	72,13

Esimerkkikromatogrammi

Tässä liitteessä on esitetty kehitettyä menetelmää käyttäen tuotettu esimerkkikromatogrammi. Analysoitu näyte on tehty näytevedestä, jonka liuosinjektiomenetelmällä analysoitu pitoisuus on ~1 ppm, ja johon on lisätty BTEX-standardia. Lisätyt pitoisuudet on esitetty taulukossa 1.



Kuva 1. Esimerkkikromatogrammi

Poolittoman kolonnin kromatogrammissa on heti p- ja m-ksyleenipiikin jälkeen havaittavissa epäpuhtaudesta johtuva voimakas piikki. Tällaisessa tapauksessa, jossa analyytti- ja epäpuhtauspiikit limittyvät osin toistensa päälle, on analyytin saanto usein keskimääräistä alhaisempi.

Taulukko 1. Esimerkkikromatogrammin näytteeseen lisätyt BTEX-pitoisuudet

Analyytti	Pitoisuus (mg/näyte)
benz	0,00181
tol	0,00363
eb	0,00265
p_xyl	0,00265
m_xyl	0,00629
o_xyl	0,00296
tot (mg/näyte)	0,02
tot (ppm)	5

Vertailu liuosinjektiomenetelmään

Tässä liitteessä on esitetty näytevesistä HS- menetelmällä analysoitujen pitoisuuksien vertailu liuosinjektiomenetelmällä analysoituihin pitoisuuksiin. Pitoisuudet on ilmoitettu ppm:na, ellei toisin mainita.

näytetunnus	14031_N1_3993.1 mg_cyclohex0.25m g_iaa5mg	14031_N2_4003.5mg_cy clohex0.25mg_iaa5mg		
benz	0	0		
tol	0	0		
eb	1,5025713	1,4094144		
p_xyl	1,5532497	1,5552451		
m_xyl	3,6072908	3,5329703		
o_xyl	1,8241594	1,8365113		
tot	8,4872713	8,3341411		
benz	0	0		
tol	0	0		
eb	1,3016471	1,3629194		
p_m_xyl	4,9169647	3,934462		
o_xyl	2,1037139	1,7574553		
tot	8,3223258	7,0548367		
pitoisuus, liuosinj.	10	10		
näytetunnus	14063_1_3992.0m g_cyclohex0.25mg _iaa5mg	14063_2_3995.5mg_cycl ohex0.25mg_iaa5mg	14063_3_3996.7mg_cycl ohex0.25mg_iaa5mg	14063_4_3995.4mg_cycl ohex0.25mg_iaa5mg
benz	0	0	0	0
tol	0	0	0	0
eb	0,2364174	0,2291978	0,2346973	0,2251273
p_xyl	0,2272694	0,1788579	0,1926106	0,1691153
m_xyl	0,5421447	0,5041587	0,5140138	0,4839148
o_xyl	0,3933071	0,3876081	0,4011809	0,346992
tot	1,3991386	1,2998225	1,3425026	1,2251494
benz	0	0	0	0
tol	0	0	0	0
eb	0,2767421	0,2217846	0,2211407	0,231721
p_m_xyl	0,410195	0,387458	0,3749809	0,3606444
o_xyl	0,402256	0,3911915	0,3952302	0,3807744
tot	1,0891931	1,0004341	0,9913517	0,9731398
pitoisuus, liuosinj.	<10	<10	<10	<10

näytetunnus	14063_5_3996.0mg_cyclohex0.25mg_iaa5mg	14063_6_3990.2mg_cyclohex0.25mg_iaa5mg	14063_norm_1_3991.9mg_cyclohex0.25mg_iaa5mg	14063_norm_2_4003.6mg_cyclohex0.25mg_iaa5mg
benz	0	0	0	0
tol	0	0	0	0
eb	0,2385557	0,2424425	0,2659862	0,2615652
p_xyl	0,1924878	0,1879142	0,2190848	0,1810124
m_xyl	0,5170264	0,5060033	0,5701234	0,5018579
o_xyl	0,3870168	0,3616362	0,5258815	0,459886
tot	1,3350867	1,2979962	1,5810758	1,4043216
benz	0	0	0	0
tol	0	0	0	0
eb	0,2421925	0,2398975	0,2840323	0,2825399
p_m_xyl	0,4000294	0,3637939	0,5461607	0,5529917
o_xyl	0,3620163	0,3700833	0,3932402	0,3824175
tot	1,0042382	0,9737747	1,2234332	1,2179492
pitoisuus, liuosinj.	<10	<10	<10	<10
näytetunnus	14122_norm_1_3991.1mg_cyclohex0.25mg_iaa5mg	14122_norm_2_4000.3mg_cyclohex0.25mg_iaa5mg	14122_norm_3_4005.5mg_cyclohex0.25mg_iaa5mg	14122_norm_4_3997.9mg_cyclohex0.25mg_iaa5mg
benz	0	0	0	0
tol	0	0	0	0
eb	2,0882551	1,9359042	2,1951917	2,3093083
p_xyl	1,8416275	1,4054097	1,6179872	1,6048577
m_xyl	4,680127	4,5808166	4,8616448	4,8350015
o_xyl	1,3982863	1,3394853	1,4764062	1,3138192
tot	10,008296	9,2616157	10,15123	10,062987
benz	0	0	0	0
tol	0	0	0	0
eb	2,0508131	1,8566665	4,4365284	15,014072
p_m_xyl	5,5677702	5,2542191	6,1202662	6,2000608
o_xyl	1,4415515	1,3042461	1,4312179	1,4465381
tot	9,0601348	8,4151316	11,988012	22,660671
pitoisuus, liuosinj.	10 - 15	10 - 15	10 - 15	10 - 15